VOLUMEN 6 JULIO, 1958 FASCICULO 1

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL

EDITORIAL UNIVERSITARIA

SAN JOSE COSTA RICA

CONSEJO HONORARIO

RODRIGO FACIO
Rector de la Universidad de Costa Rica

FABIO BAUDRIT
Decano de la Facultad de Agronomía

GONZALO MORALES
Decano de la Facultad de Microbiología

GONZALO GONZALEZ
Decano de la Facultad de Farmacia

HERNAN BOLAÑOS
Decano de la Facultad de Odontología

FERNANDO TREJOS E.
Presidente del Colegio de Médicos y Cirujanos

ETTORE DE GIROLAMI
Director

RAFAEL L. RODRIGUEZ
Sub-director

COMITE DE REDACCION

ROGER BOLAÑOS
RODRIGO R. BRENES
JONNY DE ABATE
EDDIE ECHANDI
BERNAL FERNANDEZ
OTTO JIMENEZ
PEDRO MORERA
RAYMOND PAULY
ARMANDO RUIZ
LUIS A. SALAS
ALFONSO TREJOS
RODRIGO ZELEDON

Toda la correspondencia, así como los artículos que se deseen someter para su publicación deberán ser enviados a: Comité de Redacción de "REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL". Apartado 4500. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, A. C.

REVISTA

DE

BIOLOGIA TROPICAL

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

VOLUMEN 6 JULIO, 1958 FASCICULO 1

SUMARIO

Página

MATA, L. & J. M. JIMÉNEZ.—Reporte de un caso de granuloma hiperqueratósico producido por *Candida albicans* 1

MATA, L.—Sobre un método de selección para el aislamiento de shigelas y salmonelas 17

CRUZ, DE LA, E.—Epidemiología de la Salmonelosis en Costa Rica. I. Salmonelosis en porcinos 27

CRUZ, DE LA, E.—Epidemiología de la Salmonelosis en Costa Rica. II. Salmonelas en carnes procesadas 37

BOLAÑOS, R.—Sobre la distribución e identificación serológica del género *Salmonella* en Costa Rica 43

FLORES-BARROETA, L., ESPERANZA HIDALGO & R. R. BRENES.—Céstodos de Vertebrados IV 55

BOLAÑOS, R.—Estudio bacteriológico en las otitis crónicas infantiles 79

RUIZ, A.—Contribución al estudio del género *Phytomonas* Donovan en Costa Rica. I. *Phytomonas tortuosa* n. sp. 87

JIMÉNEZ-QUIRÓS, O.—Algunas consideraciones sobre clonorquiasis sinensis y un método simple para su diagnóstico 95

RUIZ, A.—Protozoarios parásitos de la boca en Costa Rica 99

ECHANDI, R. & E. ECHANDI.—Influencia de vitaminas y aminoácidos en el crecimiento y esporulación de *Mycena citricolor*, *Phoma costarricensis*, *Cercospora coffeicola* y *Ceratostomella fimbriata* 103

JIMÉNEZ-QUIRÓS, O., R. R. BRENES & P. L. VIETO.—Parasitosis intestinal en el universitario costarricense 113

Rev. Biol. Trop. 6(1):1-16, 1958

Reporte de un caso de granuloma hiperqueratósico producido por Candida albicans *

por

Leonardo Mata** y José Miguel Jiménez***

(Recibido para su publicación el 30 de abril de 1958)

La *Candida albicans* generalmente produce lesiones banales o graves, subagudas o agudas en las mucosas bucal y vaginal, en la piel, en las uñas, y también en el árbol bronquial y en los pulmones; pueden presentarse además, de manera ocasional, invasiones de otros territorios, a menudo de consecuencias fatales. Se han reportado casos de meningitis, endocarditis, ependimitis, absceso cerebral, septicemia e invasión de la córnea (2).

Pero además de las lesiones mencionadas, existe otro tipo de afección producida por *C. albicans* que se caracteriza por la formación de granulomas acompañados generalmente de hiperqueratosis. Al contrario de las demás formas de moniliasis cutánea, el granuloma candidiano se distingue por la aparición de una reacción inflamatoria con formación de tejido de granulación que interesa el corion, tal como sucede en las micosis profundas.

Hasta el presente los casos reportados de granuloma debidos a *C. albicans* llegan a la docena y media.

HAUSER & ROTHMAN (4) en 1950, reportan un caso, y, estudiando la literatura al respecto, refieren que el total de casos, incluyendo el de ellos, alcanza a catorce, todos los cuales son semejantes en cuanto a los hallazgos clínicos, patológicos y de laboratorio.

Estos casos eran niños en los que la enfermedad se inició a temprana edad con un cuadro clínico similar en el cual los sitios de predilección de las lesiones fueron cuero cabelludo, cara, labios y mucosa oral, uñas de los dedos pulgares y a veces de otros dedos.

---

* Trabajo realizado en el Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios.

** Laboratorio Bacteriológico, Hospital San Juan de Dios.

*** Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Después del trabajo de HAUSER & ROTHMAN, sólo aparece, en la literatura revisada por nosotros, un nuevo caso estudiado por PLUSS & KADAS (8), el cual es interesante por el hecho de presentarse la lesión granulomatosa en la región maleolar media derecha; la hiperqueratosis y las masas verrucosas se extendían desde la punta de los dedos hasta el tobillo. El pie y tobillo izquierdos presentaban un cuadro semejante. Además, el escroto, la base del pene y la cara interna del muslo izquierdo presentaban masas friables hiperqueratósicas, grises, de base eritematosa. Todas estas regiones están raramente comprometidas por el granuloma candidiano.

MOORE (7) en 1948 reportó un caso de moniliasis granulomatosa que fue puesto en duda por HAUSER & ROTHMAN pero que bien puede ser considerado como auténtico ya que, conforme se ha ido conociendo más sobre esta entidad morbosa, es posible que haya casos con localizaciones las más diversas, sin concomitancia con lesiones mucosas y posiblemente con hiperqueratosis discreta. En éste último tipo de lesión, el diagnóstico se torna difícil dado que la abundancia de filamentos fungosos ocurre en los materiales costrosos, queratósicos o concreciones córneas y no en el proceso granulomatoso mismo.

REPORTE DEL CASO

HISTORIA Y EXAMEN CLÍNICO

El 3 de febrero de 1955 fue admitida en uno de los Servicios de Pediatría del Hospital San Juan de Dios, la niña Y. D. G., de 2½ años de edad, raza blanca, proveniente de Pueblo Viejo de La Mansión de Nicoya, Guanacaste, con un diagnóstico provisional de "dermatosis". De acuerdo con la historia clínica, un año antes la niña había empezado con sialorrea marcada y rinorrea continua; posteriormente le aparecieron pápulas a manera de un acné vulgar, cuya superficie fue tornándose oscura hasta adquirir la pigmentación que presentaban algunas al momento del ingreso. Cuando fue admitida el estado de salud era bueno y no había fiebre. Con anterioridad se habían instituído varios "tratamientos caseros" y "series de inyecciones" sin resultado satisfactorio.

El aspecto clínico reveló numerosas formaciones córneas en la cara y en la espalda, no pruriginosas y al parecer indoloras. Las lesiones hipertróficas, concreciones irregulares o a manera de cuernos se encontraban localizadas en la frente, la nariz, los labios y alrededor de la boca, incluyendo el mentón, presentándose además formaciones más pequeñas en los carrillos, parte superior del tronco y extremidades. En el cuero cabelludo y en la espalda habían cornificaciones del mismo tipo de las de la cara. Las lesiones eran oscuras, córneas, duras, acuminadas, proliferantes y muy vascularizadas en la base como se pudo comprobar al extirparlas. La mayoría de los granulomas estaban rodeados de pequeñas zonas eritematosas, así como de áreas descamativas y cicatrices (fig. 1). Se presentó onicomicosis en el dedo índice de la mano derecha y en el dedo anular de la mano izquierda, con paroniquia acentuada y muy dolorosa. El as-

pecto de las uñas sugirió que se trataba de una onicomicosis producida por *C. albicans* ya que las uñas aparecieron rugosas, muy engrosadas, opacas, con zonas de pigmentación oscura, características todas en contraposición con las de una lesión debida a dermatófitos. Además, la presencia de zonas infiltradas, rojizo-violáceas, dolorosas y semejantes a las producidas por infecciones piógenas, estaban a favor de un diagnóstico de candidiasis, como fue confirmado posteriormente (fig. 3).

Durante todo el mes de febrero las lesiones persistieron a pesar de los tratamientos instituídos, observándose entonces la aparición de placas en la mucosa bucal características del "muguet" candidiano y lesiones en las comisuras de los labios (perléche), así como presencia de diarrea y fiebre.

El 10 de marzo se observó la caída espontánea de algunas de las concreciones queratósicas, pero el 4 de abril el examen reveló agudización del cuadro con reaparición de las lesiones que habían regresado (fig. 2).

La enfermedad siguió su curso durante todo el tiempo de hospitalización sin observarse mejoría alguna y egresó el 6 de octubre del mismo año en las condiciones mencionadas.

Como otros datos clínicos podemos citar que la niña contrajo sarampión a fines de febrero, y, a mediados de setiembre presentó un cuadro ictérico que se consideró como una hepatitis tóxica post-terapéutica.

Exámenes de laboratorio

Se practicaron exámenes rutinarios de laboratorio, radiografías y biopsias.

La radiografía de pulmones practicada en febrero indicó pequeñas adenopatías tráqueo-bronquiales, imagen que no varió cuando se hizo un control en mayo. En este mes se hizo una radiografía de cráneo que no mostró anormalidades.

En cuanto a las pruebas de laboratorio, tanto los exámenes de heces como de orina fueron normales. El examen de la sangre capilar varió en el curso de la enfermedad del siguiente modo:

		21 Feb.	5 Set.	13 Set.	30 Set.
Hemoglobina	(g %)	10,5	10,0	—	11,50
Eritrocitos	(millones/mm³)	3,2	3,6	2,75	3,55
Leocucitos	(miles/mm³)	5,6	5,4	4,00	
Basófilos	(%)	0	0	0	
Eosinófilos	(%)	1	10	1	
Mielocitos	(%)	0	0	0	
Metamielocitos	(%)	0	0	0	
En banda	(%)	3	0	7	
Segmentados	(%)	47	34	29	
Linfocitos	(%)	48	54	62	
Monocitos	**(%)**	**1**	**2**	**1**	

Se buscó treponemas al campo oscuro en repetidas ocasiones con resultado negativo. Las reacciones cualitativas de Kahn y V.D.R.L. también fueron negativas. Los frotis de las lesiones no revelaron la presencia de leishmanias, la intradermorreacción de Montenegro fue negativa y la de Tuberculina (0,01) positiva. En mayo se practicó una punción lumbar y se extrajo el líquido céfalo-raquídeo que resultó normal.

En cuanto a los exámenes micológicos, se obtuvo de las lesiones de las uñas y en particular de la inflamación paroniquial, un material de aspecto purulento a caseoso que fue observado al microscopio entre lámina y laminilla mostrando gran cantidad de filamentos, blastosporas y seudomicelio (figs. 4 a 7).

Las escamas y costras de las lesiones queratósicas cutáneas se montaron y aclararon con hidróxido de sodio al 10 por ciento y calor y se estudiaron microscópicamente observándose también esporas, micelio y seudomicelio no pigmentados.

En vista de la evidencia de una lesión por hongos se practicaron cultivos del material de las lesiones onicomicósicas, paroniquiales y granulomatosas, en agar Eosina-Azul de Metileno Difco con aureomicina (10 mgs. de hidrocloruro de aureomicina para cada 100 ml. de medio), bajo una atmósfera de 10 por ciento de CO_2, de acuerdo con los trabajos de WELD (9) (10), dado que sospechábamos que dicha lesión fungosa fuera moniliásica. En estas condiciones, las cepas de *C. albicans* pueden diferenciarse rápidamente de las otras especies del género, por cuanto son capaces de filamentizar y producir colonias asteriformes visibles a simple vista o con la ayuda de una lupa, en un término de 24 a 48 horas. Conjuntamente, el método de WELD resulta ventajoso en los casos en que haya posibilidad de contaminación bacteriana. Obtuvimos repetidas veces las colonias típicas de *C. albicans,* varias de las cuales se sembraron en agar de Sabouraud (glucosado al 2%) y en agar Corn Meal para observar la producción de clamidosporas. La cepa fue clasificada de acuerdo con LODDER (6) y su patogenicidad se comprobó mediante inoculación intraperitoneal al conejo de una suspensión de blastosporas y examen y cultivo del riñón *post mortem.*

La levadura logró aislarse además de la lesión bucal ("muguet" y perléche) y de las heces.

De las mismas lesiones cutáneas hiperqueratósicas se aisló una cepa de estafilococos que por sus características fisiológicas (actividad plasmocoagulante, producción de pigmento amarillo y fermentación del manitol) llegamos a considerar patógena. El antibiograma indicó que el *Staphylococcus aureus* era resistente a penicilina y sulfatiazol, moderadamente sensible a estreptomicina y muy sensible a aureomicina, cloranfenicol y terramicina.

Es ya bien conocido que el diagnóstico de Candidiasis (Moniliasis) se complica por el hecho de que *Candida albicans* puede ser aislada con frecuencia de la piel, garganta y vagina de personas aparentemente sanas, así como de las heces de individuos sin trastornos del tubo digestivo y del esputo de sujetos sin cuadros bronquiales ni pulmonares.

Paralelamente a este hecho, el diagnóstico de laboratorio resulta a me-

nudo laborioso en las moniliasis corrientes ya que el número de organismos es pequeño y muchas veces no demostrable mediante repetidos exámenes directos.

En el granuloma candidiano tenemos un cuadro completamente opuesto puesto que se produce una proliferación exagerada de la levadura en las capas córneas o crecimiento hiperqueratósico de las lesiones y resulta fácil evidenciar los filamentos por simple examen directo. El gran número de parásitos hace asimismo fácil el aislamiento del agente etiológico en los medios usuales para hongos.

Anatomía patológica

Origen de la pieza: formaciones córneas de la cara.
Aspecto macroscópico: trozo tisular de 8x10x15 mm, de consistencia firme, que al corte se fragmenta como en escamas.
Examen histológico: los primeros 4 mm corresponden en profundidad al dermis y capas vitalizadas de la epidermes. Los restantes 11 mm hacia la superficie están constituídos por epidermis cornificada. En la porción dérmica se aprecian papilas muy profundas, infiltradas por elementos mononucleares con predominio de linfocitos y células plasmáticas; hay también proliferación fibroblástica y neoformación vascular sanguínea. La epidermis que recubre las papilas tiene en primer lugar acúmulo de pequeños gránulos en el citoplasma de los elementos en el estrato de Malpighi; luego casi sin transición y a veces muy cerca del estrato basal empieza la acumulación de numerosas capas de materia córnea que forma una inmensa masa, aproximadamente 30 veces mayor que lo normal. Las células que componen toda esta capa están desvitalizadas, con núcleos que no se tiñen y citoplasma hialino; entre los elementos celulares o en el seno de la masa córnea se excavan hoquedades, muchas de las cuales aparecen ocupadas por filamentos fungosos, los que forman verdaderas redes densas. En algunas áreas se pueden apreciar también blastosporas. Respecto a la cantidad de hifas y blastosporas es evidente que la casi totalidad se encuentra en el espesor de la materia córnea que histológicamente aparece desvitalizada. Sólo excepcionalmente fue posible encontrar una que otra blastospora libre en la dermis.
Diagnóstico: Dermo epidermitis crónica granulomatosa, papilomatosa e hiperqueratósica: Moniliasis. f. Dr. R. Céspedes.

Tratamiento

Se prescribieron compresas de sulfato de cobre y luego antibióticos (penicilina, aureomicina, dihidroestreptomicina y cloranfenicol) con lo que el cuadro general recrudeció, apareciendo placas en la mucosa bucal que fueron tratadas con violeta de genciana al igual que el resto de las lesiones. La exacerbación del proceso seguido a la terapia con antibióticos es una prueba más del efecto que éstos tienen sobre las infecciones micóticas, y que ha sido comentado innumera-

bles veces por muchos investigadores en la moniliasis (1) (2) (11), y en particular por KLIGMAN (5) y FASSOTTE (3) en el "muguet" candidiano.

En marzo se preparó una vacuna con la cepa de *C. albicans* de turbiedad comparable al tubo 2 del Nefelómetro McFarland, y se inyectó inicialmente 0,1 ml. de una dilución al 1:10, aumentando 0,1 ml. cada día hasta llegar a dar 3,5 ml., donde se suspendió el tratamiento pues no se observó reacción favorable alguna.

A fines de marzo se suministró Micostatin R (nistatina) en tabletas de 500.000 U. (4 a 5 tabletas por día durante 16 días), conjuntamente con los toques de violeta de genciana sobre las lesiones. En mayo se aplicó ungüento Micostatin R y en julio crema Vioformo R (iodocloro-oxiquinolina al 3%). A mediados de agosto se dio Promacetin R (acetosulfona) en tabletas de 0,33 g en la forma siguiente: ½ tableta diaria por dos días, luego 1 diaria por 4 días, 2 tabletas por dos días y finalmente una tableta diaria por 12 días. El tratamiento hubo de suspenderse al aparecer un cuadro de ictericia.

Resumiendo, concluimos que ninguna de las indicaciones terapéuticas mencionadas demostró ser eficaz de un modo convincente. La violeta de genciana suprimió parcialmente el "muguet", pero no manifestó efecto sobre el resto de las lesiones. No obstante, la niña mejoró poco tiempo después de su egreso del Hospital y el hecho puede sugerir que la última droga administrada (Promacetin R) pueda haber tenido algún efecto terapéutico efectivo.

COMENTARIO

Es importante resaltar la semejanza que existe entre los hallazgos clínicos, patológicos y de laboratorio del caso que nos ocupa y los observados en los otros reportados en la literatura. Podemos resumir que en este caso el desarrollo del granuloma ocurrió a temprana edad como una lesión primaria de la mucosa oral. Posteriormente aparecieron lesiones papulosas en cuero cabelludo, cara (frente, párpados, nariz, labios, mentón, carrillos y orejas), tronco (parte superior del tórax), uñas de las manos y extremidades. Las masas queratósicas mayores semejaban cuernos y se presentaron en cuero cabelludo y cara. En extremidades y tronco las lesiones eran papulosas y pequeñas. No se presentó lesión en el velo palatino ni en las uñas de los pies.

En el granuloma candidiano hay compromiso no sólo de la epidermis y parte superior del corion sino también de las capas profundas de éste, al igual que en la esporotricosis y cromoblastomicosis. Este hecho puede explicar el fracaso de la terapia con la violeta de genciana, vioformo y nistatina. La posibilidad de tratar eficazmente estos pacientes queda limitada por el hecho de que es muy probable que ocurra una reinfección, sobre todo si se considera que la causa de la contaminación no parece deberse a la virulencia de determinada cepa

de *C. albicans* sino a la misma susceptibilidad del individuo. La maceración, diabetes, desnutrición o enfermedades colaterales no parecen ser factores esenciales en el desarrollo del granuloma, más bien es posible que éste se establezca como consecuencia de una deficiencia en los mecanismos de defensa. La enorme proliferación de la levadura en los tejidos, que en estos casos se comportan como verdaderos medios de cultivo, es una prueba a favor de lo dicho anteriormente.[1]

AGRADECIMIENTO

Queremos hacer constar nuestra gratitud al Dr. C. Sáenz por haber revisado el manuscrito original.

RESUMEN

Los AA presentan un caso de granuloma hiperqueratósico cutáneo producido por *C. albicans* en una niña de 2½ años, de raza blanca.

Los sitios comprometidos fueron el cuero cabelludo, la cara, el tronco, las extremidades y las uñas de las manos.

SUMMARY

A case is described of hyperkeratosic cutaneous granuloma caused by *C. albicans,* in a 2½-year-old girl, of white race. The area affected comprised the scalp, face, trunk, limbs, and fingernails.

---

[1]) Estando el trabajo en prueba de página, tuvimos la oportunidad de conversar sobre nuestro caso con el Dr. Arthur W. Frisch, Profesor de Bacteriología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Oregon, quien nos manifestó haber visto un paciente con una lesión granulomatosa cutánea, en la cual los cultivos siempre indicaron la presencia de *Candida albicans.* Tratando el material del granuloma con alcohol y sembrándolo en los medios adecuados, él logró obtener, después de repetidos intentos, un cultivo de *Microsporum canis* que cree sea el verdadero agente etiológico de las lesiones. Los cultivos negativos por dermatófitos podrían explicarse con base en el abundante crecimiento de *C. albicans* que enmascara su desarrollo. De acuerdo con Frisch, se plantea la posibilidad de que en los casos semejantes descritos en la literatura, a pesar de haberse reportado siempre *C. albicans,* pueda haber otro hongo, un dermatófito, responsable de las lesiones.

Fig. 1: Niña Y. D. G. al momento del ingreso al Hospital. Nótese las lesiones hiperqueratósicas de la cara, algunas como cuernos, y la erupción en la parte superior del tórax.

Fig. 2: El mismo caso después de algunos meses mostrando el recrudecimiento de las lesiones que siguió al tratamiento con antibióticos. Las lesiones pequeñas del cuero cabelludo y de las orejas se han acentuado notablemente.

(Foto Dra. I. Neuhauser)

Fig. 3: Aspecto de la onicomicosis y paroniquia algunos días después de haber ingresado.

1
2
3

Fig. 4: Aspecto de la preparación a fresco del material obtenido de la lesión paroniquial. Contraste de fase. 150 ×

Fig. 5: Lo mismo con mayor aumento. Nótese la abundante trama de micelio y seudomicelio. Contraste de fase. 300 ×

Fig. 6: Detalle de la microfoto anterior que demuestra claramente micelio, seudomicelio y algunas blastosporas. Contraste de fase. 1.500 ×

Fig. 7: Otro aspecto en donde se aprecian algunas esporas y micelio. Contraste de fase. 1.500 ×

(Microfotos P. Morera)

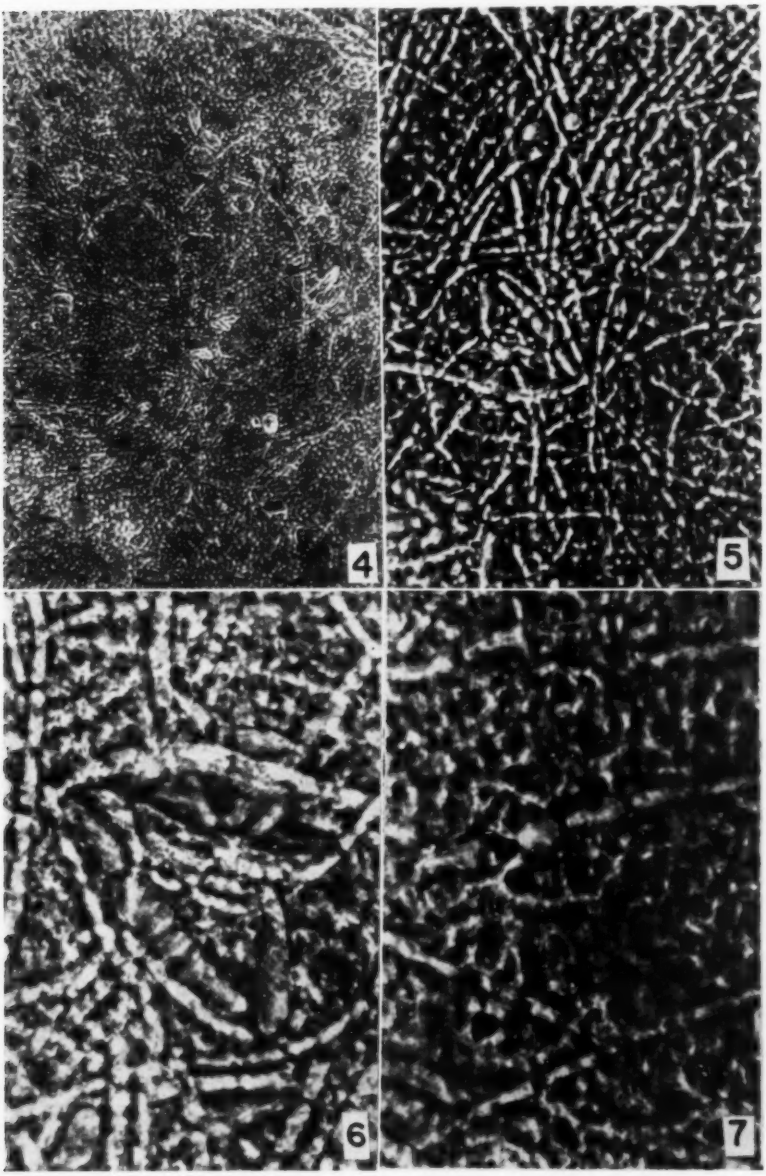

4
5
6
7

Fig. 8: Corte histológico de una formación córnea de la cara en el cual se observan las profundas papilas y la hiperqueratosis. Hematoxilina-Eosina. 35 ×

Fig. 9: Reacción hiperqueratósica en la epidermis de las formaciones de la cara, dentro de la cual se aprecian hoquedades. Hematoxilina-Eosina. 35 ×

Fig. 10: Detalle de la Fig. 8 a nivel del estrato espinoso. Hematoxilina-Eosina. 100 ×

Fig. 11: Microfotografía a nivel de la dermis que muestra la reacción granulomatosa. Hematoxilina-Eosina. 450 ×

(Microfotos A. Trejos)

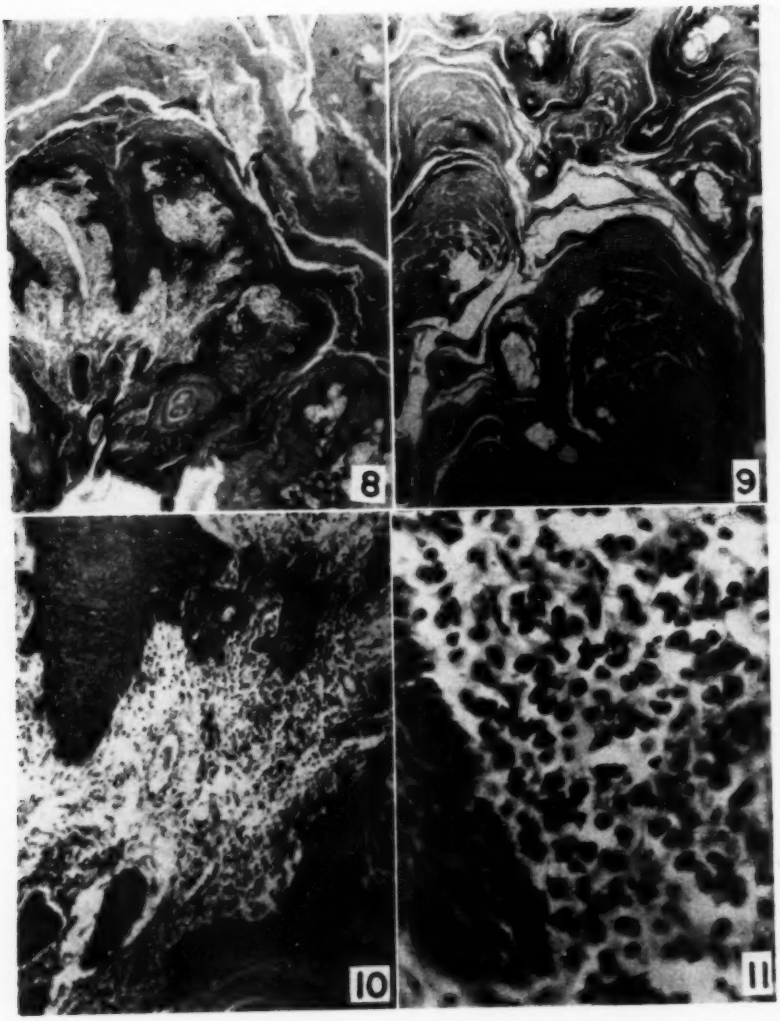
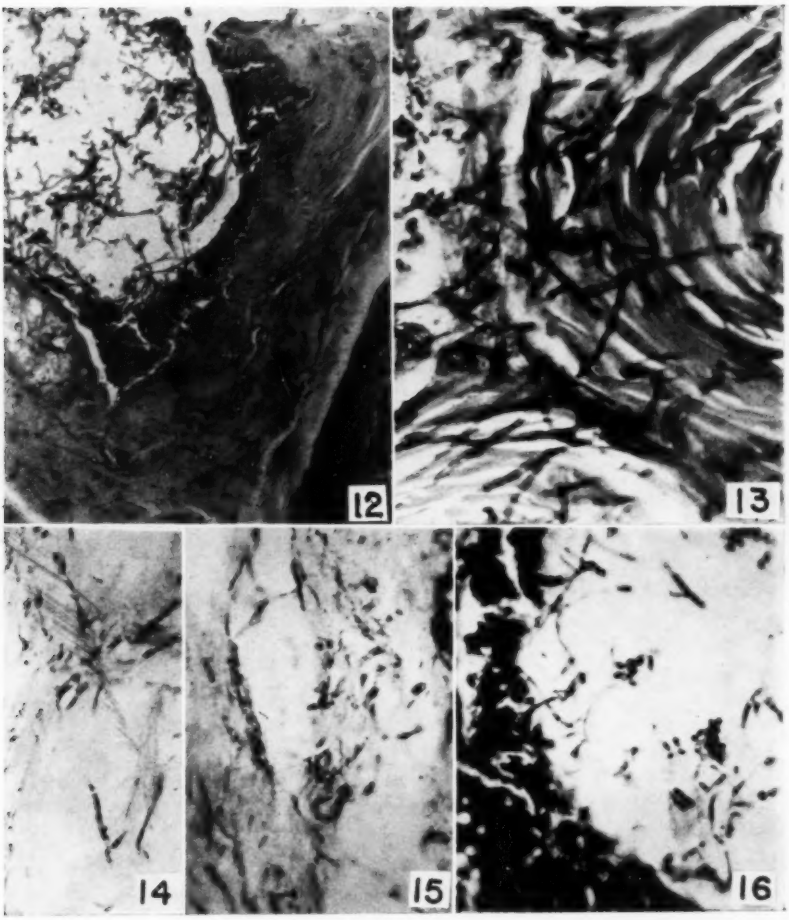

8
9
10
11

Fig. 12: Corte de un cuerno a nivel de la epidermis. Nótese la enorme proliferación del hongo en el estrato córneo, así como la presencia de un espacio con filamentos en su interior. Schiff-ácido periódico. 200 ×

Fig. 13: Otro aspecto de la trama de filamentos, y blastosporas en la masa hiperqueratósica. Schiff-ácido periódico. 450 ×

(Microfotos A. Trejos)

Figs. 14, 15 y 16: Cortes en los que puede apreciarse blastosporas y micelio de la levadura. 450 × Col. Gram para tejidos.


12
13
14
15
16

BIBLIOGRAFIA

1. CARPENTER, ANNA-MARY
   1955. Studies on *Candida*. I. Identification of 100 yeastlike fungi isolated from children. *Am. J. Clin. Path.*, 25(1):98-101.

2. CONANT, N. F. *et al.*
   1954. *Manual of Clinical Mycology*. 2ª Ed. XII+456 pp. W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pa.

3. FASSOTTE, CH.
   1956. Moniliase aprés administration de divers antibiotiques. *Arch. belges Dermat. Syph.*, 11:3-4.

4. HAUSER, F. V. & S. ROTHMAN
   1950. Monilial Granuloma. Report of a case and review of the literature. *Arch. Dermat. Shyph.*, 61:297-310.

5. KLIGMAN, A. M.
   1952. Are fungus infections increasing as a result of antibiotic therapy? *J.A.M.A.*, 149:979-983.

6. LODDER, J. & N. J. W. KREGER-VAN RIJ
   1952. *The Yeasts. A taxonomic study*. XI+713 pp. Interscience Publishers, Inc. New York.

7. MOORE, M.
   1948. Granulomatous moniliasis resembling blastomycosis (Gilchrist's disease). *Mycopathologia*, 4:272-278.

8. PLUSS, J. & L. KADAS
   1954. Case of monilial granulomas associated with widespread superficial moniliasis and epidermophytosis. *J. Invest. Dermat.*, 23(11):317-328.

9. WELD, JULIA T.
   1952. *Candida albicans*. Rapid identification in pure cultures with carbon dioxide on modified Eosin-Methylene Blue Medium. *Arch. Dermat. & Syph.*, 66(6): 691-694.

10. WELD, JULIA T.
    1953. *Candida albicans*. Rapid identification in cultures made directly from human materials. *Arch. Dermat. & Syph.*, 67(5):473-478.

11. ZIMMERMAN, L. E.
    1955. Fatal fungus infections complicating other diseases. *Am. J. Clin. Path.*, 25 (1):46-65.

Rev. Biol. Trop. 6(1):17-26, 1958.

Sobre un método de selección para el aislamiento de shigelas y salmonelas*

por

Leonardo Mata**

(Recibido para su publicación el 23 de mayo de 1958)

En la práctica de encuestas epidemiológicas encaminadas a conocer diversos aspectos de las shigelosis, lo que más interesa es la obtención de datos utilizables para fines de comparación con los reportados en otras localidades. Es por ello que todas las investigaciones debieran estar basadas en métodos uniformes, lo que es todavía más importante si de laboratorio se trata, ya que pequeños cambios en las condiciones de trabajo pueden afectar significativamente los índices.

A continuación haremos algunos comentarios sobre el método de selección de BECK (1), empleado también por nosotros (6) en una encuesta sobre la incidencia de salmonelas y shigelas en poblaciones de niños de Guatemala. Referiremos también ciertos resultados que tienen interés, desde el punto de vista bacteriológico, en el aislamiento de los cultivos.

MATERIAL Y METODO

Las muestras se tomaron al azar de niños de un día a 10 años de edad por el método de la torunda rectal, con la cual se inoculó una caja de agar SS (al 2.5% de agar) y un tubo de caldo de enriquecimietno Selenito F, incubando ambos a 37°C por 24 horas. A partir del Selenito se inocularon placas de SS (indirectas) que, junto con las primeras (directas) fueron objeto de examen a las 24 horas, dejándolas luego a la temperatura del laboratorio por 24 horas más, después de lo cual se observaron otra vez para aislar las colonias

---

* Trabajo realizado en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala. Publicación N° INCAP E-157.

** Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios y ex-becario del INCAP.

no fermentadoras de lactosa. Estas se trasplantaron, generalmente en número de cuatro, a agar TSI para observar su reacción. Las cepas cuya reacción fue típica de *Shigella* o *Salmonella* se sometieron al "proceso rápido de selección" que consistió en la inoculación de agar semisólido con manitol (medio Base Púrpura con 0,5% de agar y 1% de manitol), agar Urea de Christensen, agar Citrato de Simmons, caldo Triptona para la investigación de indol, y pruebas serológicas de aglutinación con sueros polivalentes Lederle. Por último los cultivos se enviaron a los Laboratorios del Departamento de Salud Pública del Estado de California, Estados Unidos de América, para su determinación final. Todos los ingredientes usados en la preparación de los medios de cultivo fueron de la Casa Difco y el caldo Selenito F de la Casa BBL.

RESULTADOS

Análisis de 950 casos en lo concerniente a la efectividad del proceso de selección

La muestra fue tomada del 6 de marzo al 23 de abril de 1956.

Entre 950 coprocultivos, 671 (70,6%) mostraron colonias no fermentadoras de lactosa; de éstos sólo 187 presentaron una o más colonias con reacción tipo *Shigella* en el TSI, de los cuales se descartaron 44 cepas por ser móviles, aerógenas o ureasa positiva; las 143 restantes fueron inmóviles y ureasa negativa pero sólo 105 aglutinaron con los sueros polivalentes, resultando finalmente 101 cultivos del género *Shigella*.

En la misma muestra, 55 casos presentaron reacción típica de *Salmonella* en el TSI, y se descartaron posteriormente 28 cultivos ureasa positiva. De las 27 cepas restantes, 19 aglutinaron con el suero polivalente y se confirmaron 6 cultivos (cuadro 1).

El método demostró ser muy eficaz ya que permite la eliminación, en poco tiempo, de gran cantidad de cultivos que dificultan la clasificación final. La habilidad de asimilar el citrato (citrato amonio o citrato de Simmons) como única fuente de carbono, a pesar de que permite separar muchas de las cepas del grupo Providencia (paracolon 29.911 de Stuart *et al.*) que se confunden a menudo con *Shigella*, demostró no ser imprescindible en nuestro método, ya que en el análisis de 950 muestras no descartamos ningún cultivo con esta prueba. Ello se debió posiblemente al hecho que los tubos se examinaron a las 24 horas, y las cepas de Providencia utilizan el citrato a los dos a más días. La investigación del indol demostró también poco efecto seleccionante en el "tamizaje", según se desprende del examen de los datos tabulados en el cuadro 1. Estas dos pruebas son de importancia en la clasificación final, puesto que la producción de indol tiene valor en la taxonomía de las shigelas y la asimilación del citrato en la de las salmonelas.

A pesar de la efectividad del método, siempre hay cepas que, por tener características en común con los bacilos en cuestión, soportan el proceso de se-

CUADRO 1

Proceso de selección de cepas de Shigella *y* Salmonella *entre 950 muestras*

Medio de selección	Casos seleccionados				Casos descartados	
	Total		Tipo *Shigella*	Tipo *Salmonella*	Total	%
	Total	%				
Agar SS	671	70,6	671	671*	279	29,4
Agar TSI	242	36,0	187	55	429	64,0
Agar Manitol semisólido y Agar Urea de Christensen	170	70,2	143	27	72	29,8
Agar Citrato de Simmons y Caldo Triptona (indol)	170	100,0	143	27	0	0,0
Sueros polivalentes	124	72,9	105	19	46	27,1
Clasificación final**	107	86,3	101	6	17	13,7

* En este medio las cepas de *Shigella* y *Salmonella* no pueden diferenciarse.

** Al centro de clasificación se enviaron todos los cultivos ya seleccionados en el proceso, hubieran o no aglutinado en los sueros polivalentes.

lección, como sucedió con ciertos tipos de Bethesda-Ballerup (24 cultivos), Alkalescens-Dispar (18 cultivos) y "paracolon" (11 cultivos).

Las cepas del grupo Bethesda-Ballerup se confunden a menudo con las del género *Salmonella* ya que muchas de sus propiedades bioquímicas son las mismas y, además, presentan estrechas interrelaciones antigénicas (2) (8). Los Alkalescens-Dispar, por otro lado, que fueron considerados por mucho tiempo dentro del género *Shigella*, son motivo de confusión con este género. Hoy día se clasifican como cepas no móviles anaerógenas de *Escherichia coli* (3) (4). Lo mismo puede decirse de un gran número de cultivos cuya clasificación es todavía incierta y que se denominan en la rutina del laboratorio "lentos fermentadores de lactosa" o "paracolon" que no lograron descartarse mediante el proceso de "tamizaje" y, por lo tanto, pasaron inadvertidos como si se tratara de shigelas o salmonelas.

La ayuda relativa que aportó en esta encuesta la investigación del indol amerita que en el proceso mencionado se incluya otra prueba de mayor valor como es la del Cianur de Potasio, que, de acuerdo con KAUFFMANN & MOLLER (5), es de gran utilidad para la diferenciación entre *Salmonella* y Bethesda-Ballerup, ya que la segunda puede crecer en presencia del KCN, lo que no sucede con *Salmonella*.

CUADRO 2

Comportamiento de algunas cepas de Bethesda-Ballerup, Alkalescens-Dispar y "paracolon" en el proceso de selección

Nº de cultivos	H_2S	Movilidad	Manitol	Urea	Indol	Citrato	Aglutinación	
							Shigella	*Salmonella*
Bethesda-Ballerup								
12	+			—	—	+		+
4	+			—	—	+		±
3	+			—	—	+		—
Alkalescens-Dispar								
9	—	—	A	—	+	—	—	
5	—	—	A	—	—	—	±	
1	—	—	A	—	+	—	+	
"Paracolon"								
5	—	—	NC	—	+	—	—	
2	—	—	A	—	—	—	+	

+ = Positivo
± = Positivo débil
— = Negativo

A = Producción de ácido
NC = No hay cambio

En lo referente a la asimilación del Citrato de Simmons, sería conveniente emplear otra prueba adicional que permita diferenciar entre Alkalescens-Dispar y *Shigella*. La asimilación del agar Glucosa-amonio podría servir, ya que los Alkalescens-Dispar lo utilizan en pocas horas, pero existe el inconveniente de que algunas cepas de *Shigella* también pueden crecer en él, sobre todo *Shigella sonnei* y *S. flexneri* 3.

Otro medio que podría emplearse en lugar del Citrato de Simmons y que permite diferenciar entre los dos grupos en cuestión es el agar Citrato BTB de Hajna que es asimilado por las cepas de Alkalescens-Dispar con el subsiguiente viraje del indicador (azul de bromotimol).

También puede usarse una sencilla aglutinación en lámina con un suero anti-A-D para diferenciar entre los dos grupos.

Si se cree necesario obtener una identificación más completa que la que se obtendría al usar estos sueros comerciales y pruebas bioquímicas se recomienda enviar los cultivos a un laboratorio especializado en tal trabajo.

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE EL AISLAMIENTO DE 170 SHIGELAS Y 15 SALMONELAS A PARTIR DE 2.172 COPROCULTIVOS

La muestra fue recolectada del 3 de enero al 23 de abril de 1956. Sólo reportaremos datos en lo referente al origen de las cepas y período de incubación de las mismas al momento de realizar el aislamiento.

I. *Shigelas*

Se aislaron 137 de SS directo (131 a las 24 y 6 a las 48 horas de incubación) y únicamente 33 de SS indirecto (28 a las 24 y 5 a las 48 horas). Como se ve, la mayoría de los serotipos se aislaron de agar SS sin previo pasaje por el caldo de Selenito, pero hacemos notar que más del 47 por ciento de las *Shigella sonnei* y más del 30 por ciento de las *S. flexneri* 6 se aislaron de placas inoculadas a partir del medio de enriquecimiento, lo que indica claramente que el SS, usado sólo, no es ideal para el aislamiento de estos dos serotipos, requiriéndose, por lo tanto, un incremento en el número de bacilos. Queda comprobada la bondad del Selenito para el aislamiento de *S. sonnei* como ya lo había reportado THOMAS (7) y se indica además su efectividad en el caso de *S. flexneri* 6. El empleo del caldo de enriquecimiento demostró ser imprescindible ya que de no haberse empleado, aproximadamente el 20 por ciento de los cultivos habrían escapado a la identificación (cuadro 3).

II. *Salmonelas*

Dos cepas se aislaron de SS directo a las 24 horas de incubación, y 13 de SS indirecto (12 a las 24 y una a las 48 horas). Se destaca inmediatamente que el medio de enriquecimiento es más importante en la búsqueda de salmonelas que en la de shigelas. El "medio combinado de Kauffmann" se ha dicho ser muy bueno para aislar *Salmonella* pero no para *Shigella* (4), en tanto que el caldo Selenito lo es para ambos (3) por lo que fue preferido en este estudio (cuadro 4).

CUADRO 3

Sobre 170 shigelas aisladas en 2.172 cultivos: medio de cultivo y período de incubación del mismo al momento de realizar el aislamiento.

Serotipo		Total	Agar SS		Caldo Selenito F	
			24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
TOTAL		170	132	5	28	5
Shigella dysenteriae	1	2	1	1		
	2	15	14	1		
	3	1	1			
Shigella flexneri	1a	4	4			
	1b	14	14			
	2a	8	8			
	2b	7	7			
	3	12	12			
	4a	10	10			
	5	6	6			
	6	45	29	2	9	5
Shigella boydii	1	2	2			
	7	2	2			
serotipo	792	1	1			
Shigella sonnei		41	21	1	19	

CONCLUSIONES

Del análisis del método de selección para shigelas y salmonelas basado en una muestra de 950 coprocultivos se desprende que:

1. El agar SS descartó alrededor de 29 por ciento de los casos con base en la fermentación de la lactosa.

2. El medio diferencial TSI es de enorme valor en el "tamizaje" ya que eliminó el 64 por ciento de las cepas seleccionadas en las placas de SS.

3. La acción seleccionante del par de medios Manitol semisólido y Urea de Christensen y la de los sueros polivalentes es más o menos semejante pues descartaron 29 y 27 por ciento, respectivamente, del total de cultivos seleccionados en la etapa que les antecedió.

CUADRO 4

Sobre 15 salmonelas aisladas: medio de cultivo y período de incubación del mismo al momento de realizar el aislamiento

Serotipo	Total	Agar SS		Caldo Selenito F	
		24 hs.	48 hs	24 hs.	48 hs.
TOTAL	15	2	0	12	1
Salmonella typhimurium	3			3	
derby	2			2	
newport	2			2	
manhattan	1	1			
panama	1	1			
anatum	1			1	
give	3			3	
pharr	1			1	
atlanta	1				1

4. Tanto la asimilación del Citrato como la prueba del Indol mostraron valor relativo en la eliminación de cultivos no patógenos, por lo que se recomienda la adición de otras pruebas de más utilidad (prueba del Cianuro de Potasio y sueros anti A-D respectivamente).

En cuanto al origen de las cepas y al período de incubación de los medios en el momento de aislamiento, nosotros encontramos, basados en 2.172 coprocultivos, lo siguiente:

1. Se aislaron 170 shigelas y 15 salmonelas.
2. El 80 por ciento de las shigelas se aisló del SS directamente y el 20 por ciento mediante previo enriquecimiento en caldo Selenito (placas de SS indirectas).
3. Tanto en las placas directas como en las indirectas la mayor frecuencia de aislamiento se presentó a las 24 horas de incubación.

4. Se aisló alrededor del 6 por ciento de las cepas de *Shigella* a las 48 horas de incubación (24 horas a 37°C y 24 horas a la temperatura del laboratorio) lo que demuestra la importancia de examinar cada placa por lo menos dos veces.

5. Se comprueba una vez más la bondad del Selenito en el aislamiento de *S. sonnei* puesto que más del 47 por ciento de las cepas de este serotipo se aisló gracias al caldo de enriquecimiento.

6. Se reporta la efectividad del caldo Selenito en la investigación de *S. flexneri* 6 dado que más del 30 por ciento se aisló de las placas indirectas.

7. En el aislamiento de *Salmonella* el enriquecimiento es aconsejable ya que en nuestra experiencia, de 15 cultivos, 13 se aislaron de las placas inoculadas en el caldo Selenito (placas indirectas) y sólo 2 de las placas directas.

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su agradecimiento al Dr. Nevin S. Scrimshaw, Director del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y al Dr. Alfonso Trejos, Jefe de Laboratorio del Hospital "San Juan de Dios", por la revisión del manuscrito original.

RESUMEN

En este trabajo se hace un comentario sobre la importancia de cada etapa de un método de selección para shigelas y salmonelas usado por nosotros, y se proponen sugerencias al mismo.

Por otra parte, se reportan ciertos datos de interés bacteriológico en lo referente al aislamiento de los cultivos. Estos son, tipo de medio de donde se aislaron las cepas y período de incubación al momento de efectuar el aislamiento.

SUMMARY

Emphasis is made on the importance of each step of the screening method for *Shigella* and *Salmonella* used by us. Some modifications are also suggested.

Other data of bacteriological interest are reported such as the type of media from which strains were isolated and the incubation period at the time of isolation.

BIBLIOGRAFIA

1. BECK, M. DORTHY
   1956. A preliminary study of diarrheal diseases in Guatemala, C. A. 42 pp+7 fórmulas+9 tablas. INCAP L-62. *Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá,* Guatemala.
2. CEFALÚ, M. & A. REALMUTO
   1955. Ricerche su *Escherichia freundii* e considerazioni sulla sua posizione tassonomica. *Bullettino I.S.M.,* 34(3-4):195-205.

3. EDWARDS, P. R. & W. H. EWING
1955. *Identification of Enterobacteriaceæ.* vii+179 pp. Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota.

4. KAUFFMANN, F.
1954. *Enterobacteriaceæ.* Segunda edición. 382 pp. Ejnar Munksgaard Publisher, Copenhagen.

5. KAUFFMANN, F. & V. MOLLER
1955. On amino acid decarboxylases of *Salmonella* types and on the KCN test. *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.,* 36:173-178.

6. MATA, L.
1957. Estudio sobre la incidencia de shigelas en Guatemala. *Rev. Biol. Trop.,* 5(2): 211-230.

7. THOMAS, M. E.
1954. Disadvantages of the rectal swab in diagnosis of diarrhoea. *Brit. Med. J.,* 2:394-396.

8. WEST, MARY G. & P. R. EDWARDS
1954. *The Bethesda-Ballerup group of paracolon bacteria.* Monografía No. 22. Public Health Service, U.S. Government Printing Office, Washington.

Rev. Biol. Trop. 6(1):27-35, 1958.

Epidemiología de la Salmonelosis en Costa Rica
I. Salmonelosis en porcinos

por

Enrique de la Cruz*

(Recibido para su publicación el 15 de abril de 1958)

En 1956 HORMAECHE & SALSAMENDI (15) en el Uruguay establecieron que la infección crónica por salmonelas en porcinos es muy frecuente. Posteriormente se han realizado numerosos trabajos al respecto, que KRANEVELD *et al.* (18) han recopilado en una publicación, señalando 40 diferentes serotipos como los más frecuentemente aislados de estos animales.

No pudimos encontrar referencia alguna acerca de estudios realizados en Costa Rica para buscar salmonelas en cerdos y debido a la posible importancia que éstos pudieran tener como diseminadores de salmonelosis fue emprendido durante los meses de enero a mayo de 1957, el presente estudio.

MATERIAL Y METODO

Por intermedio del encargado del Matadero Municipal de la Ciudad de San José y con la mayor esterilidad posible, se realizó a la hora del destace, la recolección de las siguientes muestras: bazo, hígado, ganglios mesentéricos y materias fecales, de cerdos aparentemente normales, sacrificados para el consumo de la Ciudad de San José y sus alrededores. Una vez colocados en sus respectivos frascos estériles eran enviadas al laboratorio con la mayor brevedad posible.

Las muestras recibidas se trataron de la siguiente manera: Se colocó cada una, con excepción de las materias fecales, en placas de Petri estériles, eliminando, con ayuda de bisturí estéril, la mayor cantidad posible de material graso. La muestra se cubrió con alcohol de 95°, procediéndose a la combustión del mismo. Con el mismo bisturí, previamente esterilizado, se expuso el interior del órgano y de diferentes partes se recogieron pequeñas cantidades que en conjunto sumaron aproximadamente 7 gramos. El material se inoculó en 20 cc de caldo de tetrationato Difco, esterilizado en el autoclave y adicionado de verde brillante

* Laboratorios de Salud Pública. Ministerio de Salubridad Pública de Costa Rica, C. A.

en concentración final de 1:100000, como lo recomiendan EDWARDS & EWING (9), incubándolo a 37°C durante 24 y 48 horas.

Las materias fecales se sembraron en placa de agar SS Difco y en caldo de tetrationato, siguiendo las recomendaciones de EDWARDS & EWING (9). Una vez transcurrido el tiempo de incubación se sembraron placas de agar SS a partir del medio de enriquecimiento y se incubaron a 37° C por 24 horas.

Tanto las placas de SS originales (directas), como las inoculadas a partir del medio de enriquecimiento (indirectas de 24 y 48 horas), fueron examinadas después de transcurridas 24 horas de incubación.

Como medio diferencial se usó el agar Triple Sugar Iron, y siguiendo las recomendaciones de EDWARDS & EWING (9), se repicaron por lo menos dos colonias de cada uno de los diferentes tipos representativos presentes en cada placa, con lo cual se aislaron por lo menos cinco colonias de cada una. Después de inoculados los TSI, se incubaron por 24 horas a 37°C y aquellos sospechosos tipo *Salmonella*, se sembraron en medio de úrea agar de Christensen modificado por MASLEN (19), para descartar los ureasa positivos. A todas las cepas ureasa negativas se les practicó las siguientes reacciones bioquímicas: prueba de indol, empleando el método descrito por BRENES & SOTO (2); movilidad, fermentación de dextrosa y fermentación de lactosa en el medio de fermentación de carbohidratos y movilidad empleado por BOLAÑOS (1).

Los cultivos que continuaban siendo sospechosos "tipo *Salmonella*" fueron sometidos a aglutinación en lámina, mediante el método recomendado por EDWARDS & EWING (9), con antisueros cedidos a los Laboratorios de Salud Pública de Costa Rica por el doctor F. Kauffmann, del Statens Seruminstitut de Copenhagen. Las cepas bioquímica y serológicamente dudosas se probaron en medio de cianuro de MOLLER (20) y se les practicó fermentación de dulcitol como carácter diferencial entre *Salmonella* y Bethesda-Ballerup, y *Salmonella* y *Arizona*, respectivamente.

Finalmente los cultivos clasificados bioquímica y serológicamente como posibles salmonellas fueron enviados, unos al doctor Gerardo Varela del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México y otros al doctor Phillip Edwards del Communicable Disease Center de Atlanta, para su confirmación y tipeo final.

RESULTADOS

El trabajo total consistió en la investigación de salmonelas a partir de hígado, bazo, ganglios mesentéricos y materias fecales de 150 cerdos aparentemente normales, estableciéndose que 79 de ellos, o sea el 52,7 por ciento, tenían por lo menos una de las muestras positivas por *Salmonella*, como se puede observar en el cuadro 1; en éste se puede ver también la incidencia de salmonelas en los diferentes tipos de muestra así como el número de capas aisladas de las muestras positivas.

CUADRO 1

Incidencia de Salmonella *en diferentes muestras de 150 cerdos. Enero a mayo de 1957*

Tipo de muestra	Positivos por *Salmonella*		Cepas aisladas
	No.	%	
TOTAL DE CERDOS	79	52,7	115
Ganglio mesentérico	43	28,6	45
Materias fecales	42	28,0	43
Hígado	17	11,3	17
Bazo	9	6,0	10

De las 115 cepas identificadas, 92 (80%) fueron aisladas de tetrationato a las 24 horas de incubación y las 23 restantes (20%), del mismo caldo pero a las 48 horas (cuadro 2).

CUADRO 2

Distribución numérica y porcentual de 115 salmonelas aisladas de medio de tetrationato, con períodos de incubación de 24 y 48 horas

Procedencia	Aislamientos realizados					
	Total		24 horas		48 horas	
	No.	%	No.	%	No.	%
TOTAL	115	100	92	80,0	23	20,0
Ganglio mesentérico	45	100	30	66,7	15	33,3
Heces	43	100	40	93,0	3	7,0
Hígado	10	100	5	50,0	5	50,0
Bazo	17	100	17	100,0	—	—

A partir de las 115 salmonelas se identificaron 21 serotipos diferentes; 5 de las cepas no pudieron clasificarse por encontrarse 4 de ellas en fase rugosa y una poseyendo el antígeno transicional T 1 de KAUFFMANN (17); esta última posiblemente sea una *Salmonella san diego* (8). En el cuadro 3 se consignan los diferentes serotipos encontrados, de acuerdo con sus fuentes de aislamiento.

En cuatro oportunidades se determinaron casos de infección doble: *S. san diego* + *S. miami* (arabinosa +) y *S. paratyphi* B + *S. manhattan*, en ganglios mesentéricos; *S. manhattan* + *S. london*, en materias fecales y *S. manhattan* + *S. san diego*, en bazo. En ninguna de las muestras de hígado logramos hallazgos semejantes.

CUADRO 3

Distribución de los serotipos de Salmonella *según sus fuentes de aislamiento*

Grupo	Género *Salmonella*	Fuente de aislamiento				
	Serotipo	Total	Ganglio mesentérico	Heces	Hígado	Bazo
	TOTAL	115	45	43	17	10
B	*S. san diego*	13	6	4	1	2
	S. saint paul	11	9	2	—	—
	S. typhimurium	6	3	2	—	1
	S. chester	5	1	3	—	1
	S. paratyphi B	2	1	1	—	—
	S. bredeney	1	1	—	—	—
	S. paratyphi B var. *java*	1	—	1	—	—
C	*S. manhattan*	31	8	10	9	4
	S. newport	8	5	3	—	—
	S. norwich	1	—	—	1	—
	S. takoradi	1	—	—	—	1
	S. manchester	1	1	—	—	—
	S. edinburg	1	1	—	—	—
	S. glostrup	1	—	1	—	—
D	*S. panamá*	3	1	1	1	—
	*S. miami**	2	1	1	—	—
	S. eastbourne	1	—	1	—	—
E	*S. london*	10	2	4	3	1
	S. give	6	—	5	—	—
	S. anatum	3	1	1	2	—
F	*S. abaetetuba*	1	1	—	—	—
—	*Salmonella* sp.**	4	1	3	—	—
	Salmonella T1 : eh : e, n, z_{15}***	1	1	—	—	—

*: arabinosa +
**: no se clasificaron por estar en fase rugosa.
***: posiblemente *S. san diego*.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo se aportan los primeros datos sobre la epidemiología de la salmonelosis en Costa Rica, al realizar un estudio sobre incidencia de salmonelas en 150 cerdos sacrificados para el consumo de la Ciudad de San José.

Al observarse un 52,7 por ciento de incidencia en estos animales es evidente que el índice de contaminación existente en nuestro país es uno de los más altos reportados hasta el momento. Por otra parte, al consultar los trabajos de HORMAECHE & SALSAMENDI (15) en Uruguay, BUTTIAUX *et al.* (3) en Francia, VARELA & ZOZAYA (22) en México, FELSENFELD *et al.* (11) en Puerto Rico, CLARENBURG *et al.* (4) en Holanda, GALTON *et al.* (13) en los Estados Unidos y KRANEVELD *et al.* (18) en Indonesia, nos encontramos que es la primera vez que se aisla las siguientes salmonelas de porcinos:

1. *Salmonella manchester,* de ganglio mesentérico.
2. *S. abaetetuba,* de ganglio mesentérico.
3. *S. edinburg,* de ganglio mesentérico.
4. *S. glostrup,* de materias fecales.
5. *S. takoradi,* de bazo.

Encontramos altas incidencias de salmonelas en ganglios mesentéricos y materias fecales (28, 6 y 28,0%, respectivamente), si se comparan con los obtenidos por diferentes investigadores (3, 4, 11, 15, 18, 22), quienes han reportado índices desde 2,7 hasta 16,6 por ciento en ganglios mesentéricos y desde 0,67 hasta 6,0 por ciento en materias fecales.

Por otra parte, a pesar de que EDWARDS (8) manifieste que la infección doble es rara, tuvimos la oportunidad de determinar tres de estos casos: *S. miami* (arabinosa +) + *S. san diego* y *S. paratyphi* B + *S. manhattan,* en ganglio mesentérico y *S. manhattan* + *S. san diego,* en bazo.

En lo referente a bazo e hígado, VARELA & ZOZAYA (23) en México reportan contaminaciones de 9,5 y 24,0 por ciento respectivamente, que resultan más elevados que los nuestros (6,0 y 11,3%).

Es de importancia resaltar que de las 115 cepas de *Salmonella* aisladas, el 20 por ciento provenían de tetrationatos con 48 horas, lo que nos demuestra la enorme importancia que tiene el prolongar el tiempo de incubación por 24 horas más de lo que comúnmente se indica (9).

A partir de las 115 salmonelas se identificaron 21 serotipos, de los cuales se habían reportado en nuestro país *S. typhimurium, S. bredeney* y *S. manhattan,* que pareciera ser el tipo más diseminado entre nosotros y no *S. typhimurium* como señalaran FELSENFELD *et al.* (12). Conviene señalar que también ESQUIVEL (10) obtuvo una mayor incidencia de *S. manhattan* al trabajar en lactantes con gastroenteritis. En orden de frecuencia le siguieron: *S. san diego, S. saint paul, S. london* y *S. newport,* organismos incriminados por DAUER (5) y DAUER & SYLVESTER (6, 7), como responsables de la gran mayoría de los

brotes de intoxicación alimenticia salmonelósica ocurridos en los Estados Unidos durante los años de 1952, 1953 y 1954.

En Costa Rica, por no existir estudios al respecto, no podemos precisar el papel que tales organismos puedan desempeñar en estos problemas, pero es de suponer que ocurra una situación semejante a la reportada por GALTON *et al.* (13) en Florida, en que de 12 serotipos predominantes en humanos, 9 lo fueron también en porcinos, lo que sugiere vías de diseminación de animales al hombre. Los estudios realizados por otros investigadores han llevado a la conclusión de que los cerdos son los animales que más importancia tienen en la contaminación de humanos. Así, HAUSER *et al.* (14) en los Estados Unidos aislaron *S. berta,* de una salchicha y de 6 personas afectadas de intoxicación alimenticia por tal producto; PETZEL (21) en Alemania reportó un caso similar al anterior.

KAUFFMANN (16) recientemente describió un nuevo antígeno somático en cepas de *S. paratyphi* B y *S. typhimurium,* denominándolo con la letra T. Posteriormente KAUFFMANN (17) estudiando cepas de *S. bareilly* provenientes de huevos en polvo, señaló un antígeno que refirió como T 2, para diferenciarlo del T 1 ya previamente descrito en *S. paratyphi* B y *S. typhimurium.* En uno de nuestros cultivos, posiblemente *S. san diego,* el doctor Phillip Edwards ha identificado el antígeno T1, hecho de interés por ser la primera vez que se reporta en *S. san diego.*

Con el presente trabajo damos un aporte al estudio de entéricos en Costa Rica y a la vez logramos aislar e identificar por vez primera 18 serotipos no reportados previamente en nuestro país, que son los siguientes: *S. san diego, S. chester, S. saint paul, S. reading, S. paratyphi* B, *S. paratyphi* B var. *java, S. manhattan, S. norwich, S. takoradi, S. manchester, S. edinburg, S. glostrup, S. panama, S. eastbourne, S. miami* (arabinosa +), *S. london, S. anatum* y *S. abaetetuba.*

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su reconocimiento al doctor Gerardo Varela del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México y al doctor Phillip Edwards, del Communicable Disease Center, por su valiosa colaboración en la clasificación de las cepas. Asimismo al Lic. Rodrigo Esquivel, por la asistencia técnica brindada y al Prof. Rodrigo Brenes, por la revisión del manuscrito original.

RESUMEN

En el presente trabajo se demuestra una elevada incidencia de salmonelas en hígado, bazo, ganglios mesentéricos, y materias fecales de 150 cerdos aparentemente normales, destinados al consumo de la Ciudad de San José y sus alrededores.

Se reportan los serotipos de *Salmonella* aislados y su distribución de acuerdo a la fuente de aislamiento. observando que 5 de esos serotipos, no habían sido reportados en los porcinos.

Se reporta por primera vez en Costa Rica la presencia de 18 diferentes serotipos de *Salmonella* y se discute la eficacia del caldo de tetrationato usando períodos de incubación de 24 y 48 horas.

Se señala por vez primera, en una posible *S. san diego,* la presencia del antígeno transicional T 1 de Kauffmann.

SUMMARY

The high incidence of *Salmonella* in liver, spleen, mesenteric lymph nodes, and feces ot 150 apparently healthy pigs, for the local consumption of San José and surrounding areas is herewith discussed.

The different serotypes that were isolated are reported with reference to their source of isolation and their frequency. Five of these serotypes had not yet been reported in hogs.

For the first time in Costa Rica, the existence of 18 different serotypes is reported. The efficiency of tetrathionate broth using incubation periods of 24 to 48 hours is discussed.

In a possible strain of *S. san diego* the presence of T 1 antigen of Kauffmann is reported.

BIBLIOGRAFIA

1. BOLAÑOS, R.
   1955. *Contribución al estudio de la otitis supurativa. Etiología y sensibilidad a los antibióticos de los microorganismos aislados.* Tesis de Grado, Universidad de Costa Rica.

2. BRENES, R. R. & J. B. SOTO
   1953. Modificación a un método simple para investigar ureasa e indol. *Rev. Biol. Trop.,* 1(2):143-145.

3. BUTTIAUX, R., R. GAUMONT & J. MORIAMEZ
   1951. *Salmonella* dans les ganglions mésentériques de porcs. *Ann. Inst. Pasteur,* 79 (2):236-238.

4. CLARENBURG, A., H. H. VINK & W. HUISMAN
   1949. *Salmonella* in the mesenteric lymph nodes of healthy pigs. *Antonie van. Leeuwenhoek,* 15 (1):14-16.

5. DAUER, C. C.
   1953. 1952 summary of foodborne, waterborne and other disease outbreaks. *Pub. Health Rep.,* 68(7):696-702.

6. DAUER, C. C. & GRANVILLE SYLVESTER
   1954. 1953 summary of disease outbreaks. *Pub. Health Rep.,* 69(6):538-546.

7. DAUER, C. C. & GRANVILLE SYLVESTER
1955. 1954 summary of disease outbreaks. *Pub. Health Rep.*, 70(6):536-544.

8. EDWARDS, P.
1957. Comunicaciones personales.

9. EDWARDS, P. & W. EWING
1955. *Identification of Enterobacteriaceæ.* VII-179 pp. Burges Publishing Company-Minneapolis, Minnesota.

10. ESQUIVEL, R.
1958. *El problema de las diarreas en Costa Rica.* IV + 109 pp. Tesis de Grado. Universidad de Costa Rica.

11. FELSENFELD, O., L. M. GONZÁLEZ & VIOLA, MAE JOUNG
1948. Estudio sobre la salmonelosis en Puerto Rico. *Puerto Rico J. Pub. Hlth. Trop. Med.*, 24(1):16-23.

12. FELSENFELD, O., VIOLA, MAE JOUNG, F. J. RUTTEN, L. S. GRANT, R. M. ARNOLD, S. FERREIRA & P. D. L. GUILBRIDE
1953. Investigation of enteric infections in the Caribbean Area. 2. Distribution of *Salmonella* strains in Curaçao, Jamaica and Costa Rica. *Amer. Jour. Dig. Dis.*, 20:233-236.

13. GALTON, M. M., W. V. SMITH, H. B. MCELRATH & A. V. HARDY
1954. *Salmonella* in swine, cattle and the environment of abattoirs. *Jour. Inf. Dis.*, 95:236-245.

14. HAUSER, G. H., W. L. TREETING & BREIFFELH, L. A.
1945. An outbreak of food poisonning due to a new etiological agent *Salmonella berta. Pub. Health Rep.*, 60(39):1138-1142.

15. HORMAECHE, E. & R. SALSAMENDI
1936. Sobre la presencia de salmonelas en los ganglios mesentéricos de cerdos normales. *Arch. Urug. Med. Cir. & Esp.*, 9(6):665-672.

16. KAUFFMANN, F.
1956. A new antigen of *Salmonella paratyphi* B and *Salmonella typhimurium. Acta Path. Microbiol. Scand.*, 39(4):299-304.

17. KAUFFMANN, F.
1957. On the T antigen of *Salmonella bareilly. Acta Path. Microbiol. Scand.*, 40 (4):343-344.

18. KRANEVELD, F. C., M. ERBER & MOH. MONSJOER
1951. Healthy pigs as *Salmonella* carriers in Java. Aerobical bacterial flora of their mesenteric lymph nodes. *Docum. Neerl. et indones.*, 3(4):343-356.

19. MASLEN, L. G. S.
1952. Routine use of liquid urea medium for identifying *Salmonella* and *Shigella* organisms. *Brit. Med. J.*, 545-546, Sept. 6.

20. MOLLER, V.
1954. Diagnostic use of the Braun KCN test within the *Enterobacteriaceæ*. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 34(2):115-126.

21. PETZEL, G.
1948. Bericht über eine fleischvergiftung in einem krankenhaus. *Zeitschr. Hyg u. Infektionskrankh.*, 128 (1/2):9-12.

22. VARELA, G. & J. ZOZAYA
1941. Salmonelas en ganglios mesentéricos de porcinos. *Rev. Inst. Salub. y Enf. Tropicales,* 2:311-318.

23. VARELA, G. & J. ZOZAYA
1944. Hallazgo de *Salmonella* en alimentos. *Rev. Inst. Salub. y Enf. Tropicales,* 5(3):171-174.

Rev. Biol. Trop. 6(1):37-41, 1958.

Epidemiología de la Salmonelosis en Costa Rica

II. Salmonelas en carnes procesadas

por

Enrique de la Cruz*

(Recibido para su publicación el 15 de abril de 1958)

La salmonelosis es una afección mundial comúnmente reconocida en su forma epidémica en grupos de individuos que han consumido alimentos contaminados por la misma fuente. FEIG (8) en los Estados Unidos reportó que durante los años 1945 a 1947 ocurrieron 54 brotes epidémicos debidos a *Salmonella* sp. en los cuales la carne y sus derivados actuaron como vehículos en el 27,8 por ciento de los brotes. Durante el año de 1956 y en vista de la importancia que las carnes pudieran tener en la epidemiología de la salmonelosis en Costa Rica, fue emprendido el presente estudio, tendiente a demostrar la incidencia y distribución de los diferentes serotipos.

MATERIAL Y METODO

Se instruyó a los inspectores sanitarios del Ministerio de Salubridad Pública en la obtención de unos 300 gramos de cada uno de los siguientes productos: mortadela, chorizo, salamé, salchichón, salchichas, queso de cerdo, tocineta y paté, de dos de las fábricas de embutidos, que por su acondicionamiento pueden considerarse como las de mejor nivel sanitario de nuestro medio.

El método empleado fue el siguiente:

1. Una vez recibidas las muestras, las colocamos en placas de Petri y con ayuda de un bisturí esterilizado en alcohol expusimos su superficie interna.
2. De diferentes puntos de esta superficie tomamos pequeñas muestras que en conjunto representaban unos 7 gramos y las inoculamos en 20 ml. de caldo de tetrationato Difco, con verde brillante al 1:100.000.
3. Los caldos se incubaron durante 24 horas a 37°C, al cabo de las cuales se sembró, a partir de cada uno, una placa de Agar SS Difco. De este paso en adelante el método a seguir fue el mismo reportado por nosotros en un trabajo anterior (7).

* Laboratorios de Salud Pública. Ministerio de Salubridad Pública de Costa Rica, C. A.

Debido al alto contenido graso de las carnes procesadas, DACK (13) recomienda el uso de d-tergitol, incorporándolo al tetrationato, a fin de obtener un efecto saponificante. Desafortunadamente durante la época en que realizábamos la presente investigación carecíamos de él, razón por la cual nos vimos obligados a omitirlo del método.

RESULTADOS

El trabajo total consistió en la investigación de salmonelas en 250 muestras de carnes procesadas, que incluían los siguientes productos: mortadela, chorizo, salamé, salchichón, queso de cerdo, tocineta y paté, estableciéndose que 20 (8%) dieron cultivos positivos por *Salmonella,* los que permitieron aislar 22 cepas. A partir de éstas se identificaron 8 diferentes serotipos, siendo los más frecuentes *S. newport* y *S. reading* (cuadro 1).

CUADRO 1

Serotipos de Salmonella *aislados de carnes procesadas*

Género *Salmonella*		Nº de aislamientos
Grupo	Serotipo	
	TOTAL	22
B	*S. reading*	4
	S. paratyphi B	2
	S. saint paul	1
C	*S. newport*	7
	S. takoradi	1
D	*S. panama*	3
E	*S. anatum*	3
	S. london	1

En el cuadro 2 se consignan los diferentes tipos de carnes procesadas que resultaron con cultivos positivos por *Salmonella.* Puede apreciarse que a excepción de 4 cepas aisladas de chorizo, único producto que requiere cocción previa a su consumo, las 18 restantes provenían de: paté, mortadela, jamón, queso de cerdo, salchichas, salchichón y tocineta. En una muestra de salchicha se comprobó la presencia de *S. panama* + *S. anatum,* y en otra de queso de cerdo, *S. paratyphi* B + *S. panama.*

CUADRO 2

Distribución de los serotipos de Salmonella *en carnes procesadas según sus fuentes de aislamiento*

Género *Salmonella*		Fuente de aislamiento							
Grupo	Serotipo	Paté	Mortadela	Queso de cerdo	Jamón	Salchicha	Salchichón	Chorizo	Tocineta
	TOTAL	5	2	3	3	3	1	4	1
B	*S. paratyphi* B	1	—	1	—	—	—	—	—
	S. reading	2	2	—	—	—	—	—	—
	S. saint paul	—	—	—	1	—	—	—	—
C	*S. newport*	1	—	—	1	1	—	4	—
	S. takoradi	—	—	—	1	—	—	—	—
D	*S. panama*	—	—	1	—	1	—	—	1
E	*S. anatum*	1	—	1	—	1	—	—	—
	S. london	—	—	—	—	—	1	—	—

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo se aportan los primeros datos sobre la contaminación de carnes procesadas en San José, observándose que de 250 muestras, el 8 por ciento dieron cultivos positivos por Salmonella. Es evidente que el índice de contaminación existente en nuestro país es bastante alto, ya que PESTANA & RUGAI (11) en el Brasil, al trabajar con 170 muestras de carnes procesadas, lograron determinar 6 salmonelas (3,52%). Por otra parte, FLOYD & BLAKEMORE (9) en Egipto y BARSINI (1) en Italia, reportaron respectivamente 2,8 y 3,0 por ciento de contaminación salmonelósica en estos productos alimenticios.

Los embutidos juegan un importante papel en la diseminación de la salmonelosis. HAUSER *et al.* (10) en los Estados Unidos aislaron *Salmonella berta* de una salchicha y de seis personas afectadas por la ingestión de tal producto. PETZEL (12) y POPP & WESTPHAL (13) en Alemania reportaron casos de salmonelosis aguda debidas al consumo de salchichas contaminadas con *S. typhimurium* y *S. enteritidis.* BUTTIAUX *et al.* (2) en Francia citan el caso de una intoxicación debida a paté contaminado con *S. enteritidis.*

De nuestras carnes procesadas se aislaron 8 diferentes serotipos, entre los que predominaron *S. newport* y *S. reading,* organismos incriminados por

DAUER & SYLVESTER (5, 6), como productores de varios de los brotes de intoxicación alimenticia ocurridos en los Estados Unidos durante los años de 1952, 1953 y 1954. En Costa Rica, al no existir estudios al respecto, no podemos señalar el papel que tales organismos puedan desempeñar en estos problemas, pero es de suponer que ocurra una situación semejante a la apuntada anteriormente. Por otra parte, al haberse determinado *S. paratyphi* B en una muestra de paté y en otra de queso de cerdo, se señala la posibilidad que se produzcan fiebres paratíficas por la ingestión de estos productos

Por último, señalaremos que nuestras carnes procesadas que resultaron con cultivos positivos por *Salmonella,* a excepción del chorizo, no requieren cocción previa a su consumo, por lo que significan peligros en potencia para contaminaciones humanas y nos extraña que hasta el momento no se hayan reportado brotes salmonelósicos por esta causa.

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su reconocimiento al doctor Gerardo Varela del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México y al doctor Phillip Edwards del Communicable Disease Center, por su valiosa colaboración en la identificación serológica de las cepas. Asimismo al licenciado Rodrigo Esquivel, por la asistencia técnica brindada; al profesor Rodrigo Brenes Madrigal y al licenciado Leonardo Mata, por la revisión del manuscrito original.

RESUMEN

1. Se examinan bacteriológicamente 250 muestras de carnes procesadas recogidas en dos fábricas de embutidos de San José.

2. Organismos del género *Salmonella* fueron aislados de 20 (8%) las muestras.

3. Se aíslan 22 cepas, identificándose 8 diferentes serotipos, entre los que predominaron *S. newport* y *S. reading.*

SUMMARY

1. Two-hundred and fifty samples of processed meats from two of San Jose's meat processing establishments were examined bacteriologically.

2. *Salmonella* was recovered from 20 (8%) of the samples.

3. Twenty-two strains of *Salmonella* were isolated, corresponding to eight different serotypes, among which, *S. newport* and *S. reading* were most prevalent.

BIBLIOGRAFIA

1. BARSINI, G.
1949. Sulla presenza di Salmonelle negli insaccati freschi di suini di commercio. *Riv. ital. Igiene,* 9 (1/6):61-66.

2. BUTTIAUX, R. V. LESAFFRE & J. MORIAMEZ
1953. Les toxi-infections alimentaires par *Salmonella*. Nécessité d'une surveillance des manipulateurs de denrées alimentaires. *Pres. Med.*, 61(36):747-748.

3. DACK, G. M.
1955. Symposium on methodology for *Salmonella* in foods. *Bact. Rev.*, 19(4): 275-276.

4. DAUER, C. C.
1953. 1952 summary of foodborne, waterborne and other disease outbreaks. *Pub. Health Rep.*, 68(7):696-702.

5. DAUER, C. C. & GRANVYLLE SYLVESTER
1954. 1953 summary of disease outbreaks. *Pub. Health Rep.*, 69(6):538-546.

6. DAUER, C. C. & GRANVYLLE SYLVESTER
1955. 1954 summary of disease outbreaks. *Pub. Health Rep.*, 70(6):536-544.

7. DE LA CRUZ, E.
1958. Epidemiología de la salmonelosis en Costa Rica. I. Salmonelosis en porcinos. *Rev. Biol. Trop.* 6(1):27-35.

8. FEIG, M.
1950. Diarrhea, dysentery, food poisoning and gastroenteritis. *Am. Jour. Pub. Health*, 40(11):1372-1394.

9. FLOYD, R. M. & C. F. BLAKEMORE
1954. Isolation of human enteric pathogens from ready-to-eat meats from butcher shops in Caira, Egypt. *Jour. Infect. Dis.*, 94(1):30-33.

10. HAUSER, G. H., W. L. TREETING & L. Z. BREIFFELH
1945. An outbreak of food poisoning due to a new etiological agent *Salmonella berta*. *Pub. Health Rep.*, 60(39):1138-1142.

11. PESTANA, B. R. & E. RUGAI
1947. Da presença de salmonelas nas carnes preparadas. *Rev. Inst. A. Lutz*, 7:5-7.

12. PETZEL, G.
1948. Bericht über eine Fleischvergiftung in einem *Krankenhaus*. *Zeitschr. Hyg. u. Infektionskrankh*, 128 (1/2):9-12.

13. POPP, L. & W. WESTPHAL
1950. Eine Massenerkrankung durch *B. ent. Breslau var. Binns*. *Zeitschr. f. Hygiene.*, 131(6):626-630.

Rev. Biol. Trop. 6(1):43-53, 1958.

Sobre la distribución e identificación serológica del género Salmonella en Costa Rica

por

Roger Bolaños*

(Recibido para su publicación el 30 de mayo de 1958)

El empleo de los sueros polivalentes en la identificación de los organismos del género *Salmonella* ha llegado a ser rutinario en los laboratorios bacteriológicos. Sus ventajas, desde un punto de vista de economía en el trabajo, son innumerables, siempre y cuando el suero satisfaga las necesidades propias de la región.

Diferentes tipos de sueros polivalentes han sido reportados (4) (12) (13) (14) (16) (25), los cuales varían en el método de preparación y en el contenido de aglutininas. El suero polivalente ideal es aquel que contenga aglutininas para la totalidad de antígenos descritos en el género, incluyendo tanto los somáticos como los flagelares. KAUFFMANN (19) en 1942 propone su primer suero polivalente que abarca todos los antígenos del género *Salmonella* descritos hasta esa época. Posteriormente el mismo autor (20) lo modifica al incluir anticuerpos para los nuevos antígenos descubiertos. Cuatro años más tarde la técnica de su preparación es nuevamente modificada (21) al adoptarse, para la preparación de los antígenos somáticos, el método de ROSCHKA (24). Posteriormente EDWARDS & EWING (10) modifican aún más la técnica propuesta por KAUFFMANN (21) al preparar cinco sueros polivalentes mixtos, es decir, conteniendo cada uno aglutininas para los antígenos somáticos como también para los flagelares, mientras que el suero de KAUFFMANN se compone de 10 sueros polivalentes: cinco somáticos y cinco flagelares.

Como mencionamos anteriormente, un suero de este tipo es ideal, pero su preparación sólo está al alcance de centros bien organizados capaces de mantener una colección apropiada de salmonelas y de suplir el tiempo y material necesarios.

Además del suero polivalente es necesario contar con una serie de sueros somáticos y flagelares que nos permitan identificar el microorganismo con exactitud, de acuerdo con el esquema de Kauffmann y White. El crecido nú-

---

* Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

mero de sueros que esto representa y las dificultades técnicas y económicas de su preparación, han llevado a varios autores a buscar métodos simplificados de diagnóstico que nos permitan identificar los principales serotipos de *Salmonella*, o bien localizarlos en pequeños grupos de los cuales pueden ser separados por medio de pruebas bioquímicas.

En esta forma KAUFFMANN (18) propone 12 sueros que permitan reconocer los principales tipos de *Salmonella;* BORNSTEIN (2) hace una proposición similar; KAUFFMANN & EDWARDS (22) proponen un suero polivalente que contenga aglutininas para las antígenos somáticos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 y 15, cinco sueros de grupo capaces de aglutinar las salmonelas provenientes de los grupos A, B, C, D y E, y cinco sueros flagelares que son: a, b, c, d, i y 1, 2, 3, 5; también se incluye un suero Vi obtenido del organismo descrito como *Salmonella ballerup*. Posteriormente EDWARDS & EWING (10) modifican ligeramente el método al incluir sueros separados para los subgrupos C_1 y C_2. Según EDWARDS & BRUNER (8) el 98,3 por ciento de los serotipos de salmonelas que se aíslan del hombre y de los animales pertenecen a los cinco grupos somáticos antes mencionados, de tal suerte que el sistema de diagnóstico serológico simplificado resulta adecuado para el trabajo de rutina. Otros autores confirman esta observación (SELIGMANN, SAPHRA & WASSERMANN (25) y BRUNNER & JOYCE (3)). La aglutinación posterior con los cinco sueros flagelares, conjuntamente con pruebas bioquímicas, nos permite identificar, sin lugar a dudas, los principales tipos de *Salmonella* como lo son: *S. paratyphi* A y *S. paratyphi* B, *S. typhi-murium, S. paratyphi* C, *S. cholerae-suis, S, typhi* y *S. sendai* (10).

Creemos, sin embargo, que el método de preparación del suero polivalente de KAUFFMANN & EDWARDS (22) y EDWARDS & EWING (10) no es del todo satisfactorio, puesto que la inoculación de un conejo con una variedad grande de antígenos da lugar al fenómeno de competencia de antígenos, sin obtenerse una proporción correctamente balanceada de anticuerpos. Este punto ya ha sido sustentado por SELIGMANN *et al.* (25), los cuales proponen, para corregirlo, el empleo de una mezcla de sueros en cantidades proporcionales al título homólogo de cada uno.

Obvio sería mencionar la conveniencia de poseer un juego de sueros somáticos y flagelares capaces de identificar todos los antígenos del género *Salmonella,* pero fácilmente se comprende las dificultades y el costo que esto representa. Sin embargo, creemos firmemente que un número reducido de sueros, escogidos con base a la frecuencia de salmonelas en Costa Rica, podría llenar satisfactoriamente todas nuestras necesidades. Este es el objetivo fundamental del presente trabajo, es decir, determinar la frecuencia de los diferentes serotipos de *Salmonella* en nuestro medio y recomendar la preparación de los principales sueros capaces de identificar la mayoría de los serotipos reportados hasta la fecha, sueros que bien podrían ser preparados por nuestro futuro Centro Regional de Identificación de Enterobacterias y distribuidos entre los principales laboratorios del país.

Al revisar la literatura costarricense sobre salmonelas y salmonelosis encontramos trabajos realizados en cerdos (6), manipuladores de alimentos (23), (5), apéndices (26), enteritis infantil (11), ganado bovino (1), carnes procesadas (7) y una encuesta realizada en un pequeño sector de la población de San José (15). Solamente en un caso (23) las cepas no fueron identificadas hasta serotipos, por lo que quedarán excluidas del presente trabajo. El resto de los autores enviaron sus cepas al exterior con el fin de que fueran identificadas.

En el cuadro 1 presentamos los diferentes serotipos de salmonelas encontrados por los autores antes citados. Debemos también mencionar que fueron excluidas del cuadro las salmonelas que se reportaron en fase rugosa, pues no tienen lugar en el estudio que nos ocupa.

Durante los años de 1954 y 1955 realizamos algunas observaciones sobre la frecuencia y distribución de salmonelas en manipuladores de alimentos, carnes procesadas, cerdos y casos humanos que padecían de desórdenes intestinales. El resultado de las mismas se demuestra en el cuadro 2. Cabe mencionar que estos resultados, en algunos casos, representan el microorganismo más probable, dentro de un pequeño grupo, pues los sueros que poseíamos no nos permitieron identificarlos con mayor exactitud.

Entre las observaciones interesantes que podemos obtener de nuestros cuadros resalta, en primer lugar, que de las 295 salmonelas reportadas el 98,9 por ciento pertenecen a los cinco primeros grupos del esquema de Kauffmann y White, corroborando así las observaciones de EDWARDS & BRUNER (8), SELIGMANN, SAPHRA & WASSERMAN (25) y BRUNER & JOYCE (3); un porcentaje similar se deduce de los trabajos de FELSENFELD *et al.* (15) y GUILBRIDE (17) realizados en el área del Caribe.

Como conclusión de los datos aportados creemos conveniente hacer las siguientes recomendaciones en cuanto a los sueros necesarios para la identificación de *Salmonella* en nuestro medio y a su preparación.

SUERO POLIVALENTE

Tal y como lo expresamos anteriormente hemos llegado a la conclusión de que es preferible emplear una mezcla de sueros correctamente balanceada, de acuerdo a los títulos homólogos de los mismos, al uso de un suero multivalente logrado a base de la inmunización de un conejo con una serie de antígenos. Según la experiencia de SELIGMANN *et al.* (25) no es necesario incluir un suero para el grupo A puesto que en el resto de los sueros que entrarán en el "pool" se incluyen anticuerpos para los antígenos 1 y 12 que aglutinarán *S paratyphi* A. Un ejemplo de la preparación del mencionado suero se presenta en el cuadro 3.

SUEROS SOMÁTICOS

Los sueros somáticos propuestos por EDWARDS & EWING (10) son plenamente satisfactorios en nuestro medio, aunque bien puede omitirse introducir

CUADRO 1

Distribución y frecuencia de los serotipos de Salmonella *según su fuente de origen*

Serotipos	Fórmula antigénica	A	B	C	D	E	F	G	Total
TOTAL = 28 tipos		108	22	28	4	12	7	34	215
S. paratyphi B	1,4,5,12: b:1,2	3	2						5
S. abortus-bovis	1,4,12,27: b:e,n,x							4	4
S. saint-paul	1,4,5,12: e,h:1,2	11	1						12
S. reading	4,12: e,h:1,5		4	1					5
S. chester	4,5,12: e,h:e,n,x	5				1			6
S. san-diego	4,5,12: e,h:e,n,z15	13							13
S. typhi-murium	1,4, 5, 12: i :1,2	6		5	1	1	1	1	15
S. bredeney	1,4,12, 27: l,v:1,7	1		1					2
S. edinburg	6,7: b :1,5	1						1	2
S. lomita	6,7: e,h:1,5			1					1
S. norvich	6,7: e,h:1,6	1		3					4
S. thompson	6,7: k :1,5			2					2
S. muenchen	6,8: d :1,2						1	1	2
S. manhattan	6,8: d :1,5	31				8			39
S. newport	6,8: e,h:1,2	8	7	6			2	9	32
S. takoradi	6,8: i :1,5	1	1						2
S. manchester	6,8: l,v:1,5	1		1					2
S. glostrup	6,8: z10:e,n,z15	1							1
S. miami	1,9,12: a :1,5	1							1
S. typhi	9,12,Vi: d :—						1		1
S. eastbourne	1,9,12: e,h:1,5	1		1		2			4
S. panama	1,9,12: l,v:1,5	3	3	1	1			10	18
S. anatum	3,10: e,h:1,6	3	3	2	2				10
S. london	3,10: l,v:1,6	10	1	4				3	18
S. give	3,10: l,v:1,7	6						5	11
S. marseille	11: a :1,5						1		1
S. abaetetuba	11: k :1,5	1							1
S. wichita	1,13,23: d :z37						1		1

A = Porcinos (6)

B = Carnes procesadas (7)

C = Manipuladores de alimentos (5)

D = Apéndices (26)

E = Enteritis (11)

F = Humanos en general (15)

G = Ganado bovino (1).

CUADRO 2

Distribución y frecuencia del género Salmonella *según nuestras observaciones personales*

Serotipos	Fórmula antigénica	A	B	C	D	Total
TOTAL		13	10	25	32	80
S. chester o	4,5,12 :e,h:e,n,x		1	1	6	8
S. san-diego	4,5,12 :e,h:e,n,z15					
S. abortus-boris o	1,4,12,27 :b :e,n,x	1				1
S. abony	1,4, 5,12 :b :e,n,x					
S. typhi-murium	1,4, 5,12 :i :1,2	3		6	1	10
S. oranienburg	6,7 :m,t:—			3		3
S. newport	6,8 :e,h:1,2	1		2	4	7
S. muenchen o	6,8 :d :1,5				4	4
S. manhattan	6,8 :d :1,2					
S. panama	1,9,12 :1,v:1,5	3	6	6	7	22
S. typhi	9,12,Vi :d : —	3				3
S. gallinarum-pullorum	1,9,12 : —: —	1				1
S. london o	3,10 :1,v:1,6	1	2	4	4	11
S. give	3,10 :1,v:1,7					
S. anatum o	3,10 :e,h:1,6		1	3	6	10
S. newington	3,15 :e,h:1,6					

A = Casos humanos sintomáticos

B = Carnes procesadas

C = Porcinos (ganglios y heces)

D = Manipuladores de alimentos.

CUADRO 3

Preparación del suero polivalente mezclado
(adaptado de SELIGMANN *et al. (25))*

Suero	Fórmula	Título homólogo supuesto	Cantidad de suero ml	Salina fenólica ml
Grupo B	1,4,5,12	1/20	5,0	
Grupo C1	6,7	1/40	2,5	
Grupo C2	8	1/25	4,0	83,2
Grupo D	9,12	1/50	2,0	
Grupo E1	3,10	1/30	3,3	

anticuerpos para el grupo E2 que no ha sido reportado en Costa Rica; en caso de presentarse alguna *Salmonella* de este sub-grupo sería aglutinada por los anticuerpos 3 del suero para el grupo E1.

En el cuadro 4 presentamos las cepas que podrían entrar en la preparación de los sueros somáticos. Para determinar correctamente la posición de una cepa dentro del grupo E, creemos conveniente la preparación de un suero absorbido contando únicamente con anticuerpos 10, el cual puede ser preparado por absorción del suero 06 con *S. newington;* en cantidad de 5 placas por ml de suero. El resto de los sueros somáticos, cuando en dilución apropiada, nos permiten identificar el grupo sin necesidad de recurrir a sueros absorbidos. Para su preparación hemos escogido las cepas que distribuye el Centro Internacional de *Salmonella* y *Escherichia,* cepas que están al alcance de los Laboratorios Regionales de Identificación de Enterobacterias. Debe, además, incluirse un suero *Vi* en cuya preparación puede emplearse la cepa Ballerup 29,Vi:z14.

CUADRO 4

Esquema para la preparación de los sueros somáticos
(Según EDWARDS & EWING (10) *modificado)*

Suero Nº	Contenido de aglutininas	Preparado con
01	1,2,12	*S. paratyphi* A
02	1,4,5,12	*S. paratyphi* B forma "O"
03	6,7	*S. thompson*
04	8	*S. virginia*
05	9,12	*S. gallinarum*
06	3,10	*S. london*

Aunque en Costa Rica no ha sido reportada la *Slamonella paratyphi* A recomendamos se incluye el suero 1,2,12 debido a que al presentarse en otros países de América, aunque con poca frecuencia (9) (25), bien podría presentarse en Costa Rica y debemos encontrarnos en capacidad de identificarla por la gran importancia que tiene.

SUEROS FLAGELARES

Los sueros flagelares propuestos por KAUFFMANN & EDWARDS no son del todo satisfactorios, pues las salmonelas que presentan una mayor prevalencia en el país escapan de ser reconocidas por medio de ellos. Indiscutiblemente su utilidad es grande, pues que nos permite identificar los tipos más importantes y para los laboratorios clínicos con esa basta. Sin embargo, como ya mencionamos anteriormente, estos sueros no llenan las aspiraciones de centros que deseen un trabajo más completo. Así, analizando nuestros cuadros, llegamos a la conclusión de que son necesarios dieciséis sueros flagelares para poder identificar el total de cepas aglutinadas por los sueros somáticos. La lista de sueros flagelares y las cepas que podrían intervenir en su preparación las damos en el cuadro 5. Puede en él verificarse que incluimos el suero flagelar *c*, empleado en la diferenciación y caracterización de *S. paratyphi* C, basándonos en las mismas razones que anteriormente apuntamos para la inclusión del suero somático del grupo A (25).

CUADRO 5

Esquema para la preparación de los sueros flagelares (según EWARDS & EWING (10) *modificado)*

Número del suero	Contenido de Aglutininas	Cepas que intervienen en su preparación
H1	a	*S. paratyphi* A.
H2	b	*S. paratyphi* B. var. *java*
H3	c	*S. cholorae-suis,* fase 1
H4	d	*S. typhi*
H5	e,h	*S. reading,* fase 1
H6	e,n,x	*S. abortus-equi*
H7	e,n,z15	*S. san-diego,* fase 2 o Paracolon 230
H8	i	*S. typhi-murium,* fase 1 o *S. bonariensis,* fase 1
H9	k	*S. thompson,* fase 1
H10	1,v	*S. bredeney,* fase 1 o *S. london,* fase 1
H11	m,t	*S. oranienburg*
H12	z10	*S. illinois*
H13	1,2	*S. newport* var. *puerto rico*
H14	1,5	*S. thompson* var. *berlin*
H15	1,6	*S. anatum,* fase 2 o *S. london,* fase 2
H16	1,7	*S. gaminara,* fase 2 o *S. bredeney,* fase 2

A causa de las reacciones cruzadas que se presentan entre las cepas por la presencia de antígenos comunes y factores inespecíficos (10), es necesario preparar algunos factores simples absorbidos. Los sueros a, b, c, d, i, k y z10 pueden ser usados sin absorber. Las cepas que intervienen en la preparación de los factores simples, así como las cantidades de antígeno necesario, las anotamos en el cuadro 6.

CUADRO 6

Preparación de los factores simples por absorción de aglutininas (adaptado de EDWARDS & EWING (10) y KAUFFMANN (21)*)*

Nº Suero	Factor deseado	Contenido del suero	Cepas usadas en la absorción	Cantidad de antígeno	Tipo de absorción
H5	h	e,h	*S. abortus-equi*	10 placas	simple
H6	n	e,n,x	*S. reading* fase 1	10 placas	simple
H10	v	1,v	*S. london* fase 1 *S. uganda* fase 1	6 placas 4 placas	doble
H12	z15	e,n,z15	*S. abortus-equi*	20 placas	doble
H13	2	1,2	*S. brenedey,* fase 2 *S. thompson,* fase 2	5 placas 10 placas	doble
H14	5	1,5	*S. anatum,* fase 2 *S. newport,* fase 2	5 placas 5 placas	doble
H15	6	1,6	*S. muenster,* fase 2 *S. thompson,* fase 2	5 placas 10 placas	doble
H16	7	1,7	*S. newport,* fase 2 *S. panama,* fase 2 *S. lexington,* fase 2	5 placas 5 placas 5 placas	doble

Indiscutiblemente el sistema propuesto es flexible puesto que muchos de los sueros recomendados están basados en una frecuencia de salmonelas que estadísticamente no es representativa. Conforme se aumenta el número de observaciones podremos ir modificando el presente sistema tratando siempre de incluir los tipos más frecuentes y restándole importancia a aquellos antígenos que en la realidad no posen la trascendencia que actualmente parecen tener.

RESUMEN

Al recopilar la literatura nacional sobre el género *Salmonella,* complementada con nuestras observaciones personales, encontramos que el 98,9 por ciento de los serotipos están incluidos dentro de los primeros cinco grupos del esquema de Kauffmann y White. Estas cepas provienen de encuestas realizadas

en cerdos, manipuladores de alimentos, enteritis infantil, apéndices, carnes procesadas, ganado bovino y personas con o sin sintomatología de disturbios intestinales.

Con base a esta incidencia se recomiendan los sueros somáticos y flagelares necesarios para identificar el máximo de cepas de *Salmonella* en Costa Rica.

SUMMARY

In a study of our national literature on *Salmonella,* completed with our personal observations, we find that 98,9 per cent of the serotypes are included in the first five groups of the Kauffmann and White scheme. These strains originated from surveys carried out on pigs, food handlers, infantile enteritis, appendices, cattle and humans with or without symptomatology of intestinal disturbances. On the basis of this incidence we recommend the somatic and flagellar sera necessary to be able to identify the maximum number of strains of *Salmonella* in Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

1. ARROYO, G.
   1958. *Un aporte al estudio de los portadores bovinos de* Salmonella *en Costa Rica.* Tesis en preparación. Universidad de Costa Rica.

2. BORNSTEIN, S.
   1942. A practical suggestion for the serological type determination of *Salmonella* organisms. *J. Bact.* 44:719-720.

3. BRUNER, D. W. & B. J. JOYCE
   1947. *Salmonella* types encountred by the 15th Medical General Laboratory. *Amer. J. Hyg.* 45:19-25.

4. CROSSLEY, V., M. FERGUSON, P. IRVINE & M. HASTINGS
   1948. *Salmonella* typing in Ontario and the use of polyvalent antisera. *Canad. J. Pub. Hlth.* 39:192-199.

5. DE LA CRUZ, E.
   1957. *Un aporte a la epidemiología de la salmonelosis en Costa Rica.* Tesis. Universidad de Costa Rica.

6. DE LA CRUZ, E.
   1958. Epidemiología de la salmonellosis en Costa Rica. I. Salmonelosis en porcinos. *Rev. Biol. Trop.* 6(1):27-35.

7. DE LA CRUZ, E.
   1958. Epidemiología de la salmonelosis en Costa Rica. II. Salmonelas en carnes procesadas. *Rev. Biol. Trop.* 6(1):37-41.

8. EDWARDS, P. R. & D. W. BRUNER
   1943. The occurrence and distribution of *Salmonella* cultures. *J. Infect. Dis.* 72: 58-67.

9. EDWARDS, P. R., D. W. BRUNER & ALICE MORAN
1948. Further studies on the occurrence and distribution of *Salmonella* types in the United States. *J. Infec. Dis.* 83:220-231.

10. EDWARDS, P. R. & H. W. EWING
1955. *Identification of Enterobacteriaceae.* VII + 179 pp. Burges Publishing Company, Mineapolis, Minnesota.

11. ESQUIVEL, R.
1958. *El problema de las diarreas infantiles en Costa Rica.* Contribución al estudio *de su etiología.* Tesis. Universidad de Costa Rica.

12. EWING, W. H. & D. W. BRUNER
1947. The use of a polyvalent serum for preliminary identification of *Salmonella* cultures. *J. Bact.* 53:362.

13. FELSENFELD, O.
1949. An outline for the identification of *Salmonella. Amer. J. Clin. Path.* 19:106-118.

14. FELSENFELD, O. & VIOLA M. YOUNG
1945. A polivalent serum for the diagnosis of *Salmonella* cultures. *J. Lab. Clin. Med.* 30:550-551.

15. FELSENFELD, O., VIOLA M. YOUNG, F. J. L. S. TUTTEN, R. M. ARNOLD, S. FERREIRA & P. D. L. GUILBRIDE
1943. Investigation of enteric infections in the Caribean area. 2. Distribution of *Salmonella* strains in Curacao, Jamaica and Costa Rica. *Amer. J. Dig. Dis.* 20:233-236.

16. GALTON, MILDRED M. & A. L. QUAN
1943. Varieties of *Salmonella* isolated in Florida during 1943. *Amer. J. Hyg.* 38: 173-177.

17. GUILBRIDE, P. D. L.
1953. Veterinary Public Health. Part. IV. Fungus infections, selvatic plague and salmonellosis. *W. I. Med. J.* 2:1-18.

18. KAUFFMANN, F.
1930. Die Technik der Typenbestimmung in der Typhus-Paratyphus gruppe. *Zentralbl. f. Bakt., I. Abt. Orig.* 119:152.

19. KAUFFMANN, F.
1942. Ueber polyvalent Immunseren zur Salmonella-Diagnose. *Acta path., microbiol. scand.* 19:248-261.

20. KAUFFMANN, F.
1950. *The diagnosis of* Salmonella *types.* VII + 86 pp. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.

21. KAUFFMANN, F.
1954. *Enterobacteriaceæ* II[a] Ed. 382 pp. E. Munksgaard, Copenhagen.

22. KAUFFMANN, E. & P. R. EDWARDS
1947. A simplification of the serological diagnosis of *Salmonella* cultures. *J. Lab. Clin. Med.* 32:548.

23. ORTIZ, E.
1956. *Contribución al estudio bacteriológico de salmonelas y shigelas en manipuladores de alimentos.* Tesis. Universidad de Costa Rica.

24. ROSCHA, E. Citado en KAUFFMANN (21)

25. SELIGMANN, E., I. SAPHRA & M. WASSERMANN
1946. *Salmonella* infections in the U.S.A. A second series of 2000 human infections recorded by the N.Y. *Salmonella* Center. *J. Inmunol.* 54:69-87.

26. XIRINACH, HILDA
1956. *Correlación de los hallazgos parasitológicos, bacteriológicos e histológicos efectuados en 103 apéndices.* Tesis. Universidad de Costa Rica.

Rev. Biol. Trop. 6(1):55-78, 1958.

Céstodos de Vertebrados IV*

por

Luis Flores-Barroeta** Esperanza Hidalgo**

y

Rodrigo Ramón Brenes***

(Recibido para su publicación el 2 de junio de 1958)

Es para nosotros motivo de gran satisfacción, presentar en este trabajo, el estudio de tres especies del género *Oochoristica* Lühe, 1898 compuesto por material mexicano, colectado por el personal del Laboratorio de Helmintología del Instituto de Biología de la Universidad Nacional de México y por ejemplares de la República de Costa Rica, Centro América, que han sido recogidos por uno de nosotros en diversas localidades de este país.

Oochoristica antrozoi Voge, 1954

REDESCRIPCIÓN.—El estudio de este céstodo (figs. 1 a 4) fue realizado en tres ejemplares completos, proporcionados por el Instituto de Biología de la Universidad Nacional, después de haber sido colectados en una lagartija del Estado de Tabasco, México, el 9 de Noviembre de 1953.

El escólex es pequeño, globoso, con cuatro ventosas bastante profundas e irregularmente esféricas; mide 0,328-0,373 mm y las ventosas 0,119-0,149 mm de largo por 0,119 mm de ancho. No hay cuello e inmediatamente se nota la iniciación de los proglótidos inmaduros, mucho más anchos que largos y con bordes laterales arredondeados.

Los segmentos maduros son también más anchos que largos, de forma rectangular, con bordes morfológicamente semejantes a los observados en los

---

* Céstodos de Vertebrados I. Ciencia. 13 (1/3): 31-36. 1953.
Céstodos de Vertebrados II. Revista Ibérica de Parasitología. 15 (2): 115-134. 1955.
Céstodos de Vertebrados III. Ciencia. 15 (1/3): 33-38. 1955.

** Laboratorio de Helmintología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, México D. F.

*** Laboratorio de Helmintología, Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica.

inmaduros, y miden 0,238-0,387 mm de largo por 0,551-0,596 mm de ancho. Los testículos son órganos casi esféricos que están situados en la zona media e inferior del proglótido y perfectamente limitados por los conductos excretores; rodean a la glándula vitelógena y ascienden ligeramente hasta el nivel del ovario, en algunas ocasiones se ven únicamente hasta la altura de la mencionada glándula; el conducto deferente es muy poco circunvoluto y se dirige hacia el atrio genital por arriba de la vagina, la bolsa del cirro está muy poco evolucionada, es alargada y de paredes delgadas y conforme va creciendo la cadena del estróbilo, se va precisando más hasta destacarse perfectamente en los segmentos grávidos, en donde tuvimos la oportunidad de observar que es dorsal en relación a los conductos excretores y que en su interior se encuentra un cirro alargado.

El atrio genital es irregularmente alterno y situado en el borde superior del segmento.

El ovario está constituído por numerosos folículos, irregularmente esféricos cuyo conjunto adopta la forma de un abanico de 0,179-0,224 mm de ancho; está situado en la zona media y superior del anillo maduro, ligeramente desplazado hacia el lado poral; por debajo de él y en la región inferior del oviducto se ve la glándula vitelógena, órgano ligeramente lobulado y de forma irregular que mide 0,075-0,075 mm de longitud y una anchura que varía entre 0,089-0,104 mm; entre el ovario y la glándula está el receptáculo seminal, órgano alargado; la vagina es un conducto delgado de luz sumamente estrecha que se dirige hacia el poro genital describiendo un trayecto curvo, pasando inferior y aproximadamente paralela al conducto deferente y bolsa del cirro.

Los proglótidos grávidos son aquellos situados al final de la cadena estrobilar, se distinguen de los maduros en que aumenta poco a poco de longitud y van desapareciendo los órganos sexuales que hemos reseñado para dar lugar a que el útero, un saco transversal, en un principio se transforme en las cápsulas uterinas que llenan todo el anillo y que en los ejemplares de este anoplocefálido por nosotros estudiado, se presentan cada una con un huevecillo. Estos segmentos miden 0,328-0,928 mm de largo por 0,685-0,730 mm de ancho.

Los conductos excretores son delgados, ventrales a los conductos genitales y están muy próximos a los bordes del proglótido, en tal forma que cruzan la bolsa del cirro en la zona más ancha de este órgano.

HUÉSPED. "Toloque" (Lacértido indeterminado).
LOCALIZACIÓN. Intestino.
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. Estado de Tabasco, México. Preparaciones en la colección del Laboratorio de Helmintología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, con el Nº 181-9.

Oochoristica eumecis Harwood, 1932

El material que utilizamos para la determinación de este anoplocefálido, está compuesto por varios ejemplares completos (figs. 5 a 8), colectados en una

iguana en Alpuyeca, Estado de Morelos, el 14 de Febrero de 1940 por el personal del Laboratorio de Helmintología del Instituto de Biología de la Universidad Nacional de México.

El escólex, típico de un céstodo anoplocefálido y con 0,402-0,462 mm de anchura, tiene cuatro ventosas irregularmente esféricas, de bordes gruesos y que miden 0,164-0,224 mm de longitud por 0,134-0,179 mm de ancho. No hay cuello bien delimitado.

Los proglótidos maduros son de forma rectangular, con una saliente lateral superior a manera de protuberancia, en donde se ve el atrio genital; estos segmentos tienen una longitud de 0,596-0,805 mm y una anchura de 1,234-1,311 mm. Los testículos son multitud de órganos casi esféricos, sumamente pequeños, que están situados en toda la zona inferior del anillo y llegan a rodear a los órganos femeninos, cuando mucho hasta el ovario al nivel de su línea media; son en número de 70 a 110 y miden 0,045-0,075 mm de largo por 0,030-0,075 mm de ancho. El conducto deferente es circunvoluto y se observa con toda precisión desde el borde superior del ovario hasta la bolsa del cirro; órgano alargado de paredes delgadas, con una longitud entre 0,164-0,253 mm y una anchura de 0,030-0,052 mm; esta bolsa es mayor en los segmentos grávidos y pudimos darnos cuenta al examinar nuestros ejemplares, que aumenta gradualmente conforme se va alargando el estróbilo. Está bien desarrollada en los anillos grávidos, tiene en su interior un conducto enrollado cuya última porción es recta y que probablemente corresponde al cirro, en este conducto se ve con toda claridad una luz que posiblemente sea del conducto eyaculador.

El atrio genital es regularmente alterno, se encuentra situado en una prominencia del segmento en el borde superior de este último y ocasionalmente se observa en la región media.

El ovario es central, está constituído por numerosos folículos irregularmente esféricos cuyo conjunto adopta la forma de un abanico que tiene 0,328-0,402 mm de anchura, los dos lóbulos están comunicados por un pequeño conducto que es el oviducto; la glándula vitelógena es inferior al ovario, de forma irregular midiendo 0,060-0,134 mm de largo por 0,119-0,194 mm de ancho; el receptáculo seminal es alargado, mide 0,060-0,104 mm de longitud por 0,030-0,060 mm de ancho, de él sale la vagina, conducto muy estrecho en su luz, que describiendo un trayecto ascendente y ligeramente ondulado llega al atrio genital, para desembocar en su poro correspondiente, pero pasando antes por debajo de la bolsa del cirro y en forma casi paralela al conducto deferente.

Los segmentos grávidos son más largos que anchos, miden 1,565-3,472 mm de largo por 1,401-2,175 mm de ancho, con numerosas cápsulas uterinas y cada una de ellas contiene a su vez un huevecillo al que se le distingue perfectamente el embrión hexacanto. En muchos de estos proglótidos se distingue todavía la bolsa del cirro, vagina y la prominencia en donde está el atrio genital ya mencionado.

Los conductos excretores son dorsales a la bolsa del cirro y a la vagina; los segmentos se encuentran cubiertos casi en su totalidad por las cápsulas uterinas.

HUÉSPED. Iguana (*Ctenosaura pectinata* Wiegmann).
LOCALIZACIÓN. Intestino.
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. Alpuyeca, Morelos, México. Ejemplares en la colección helmintológica del Laboratorio de Helmintología, de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional con el Nº 181-10.

Oochoristica pennsylvanica Chandler y Melvin, 1951

Fueron 5 ejemplares completos (figs. 9 a 13), los que utilizamos en el estudio de este céstodo.

El escólex es globoso, algunas veces de forma cuadrangular, por cierto ensanchamiento que presenta en la región de las ventosas, en donde mide 0,760-1,17 mm; las ventosas son irregularmente esféricas y ligeramente musculosas, miden 0,231-0,260 mm de largo y 0,210-0,246 mm de ancho; no se observa rostellum; en algunos de los ejemplares el cuello es más o menos corto y en otros no pudimos precisar esta región, pero sí, nos dimos cuenta de que los proglótidos inmaduros se presentan inmediatamente después del escólex.

Los segmentos maduros son de forma trapezoidal, la que se aprecia perfectamente desde la zona del estróbilo, en donde son inmaduros, y que se va perdiendo, conforme se acercan a la región de los anillos grávidos, en donde son cuadrangulares, como estos últimos. Son más anchos que largos aunque esta relación se pierde poco a poco con la evolución de estos cucurbitinos, presentando un aumento en longitud y anchura, aunque el primero es más notable. Sus medidas son: 0,198; 0,244; 0,238; 0,268; 0,283; 0,313 y 0,417 mm de largo, por 0,507; 0,522; 0,536; 0,566; 0,596; 0,648 y 0,820 mm de ancho.

Los testículos de 19 a 36, son irregularmente esféricos, se sitúan en la porción central, y posterior del segmento, por debajo del ovario y de la glándula vitelógena; en algunos casos su posición asciende hasta el nivel de este último órgano; miden 0,027-0,042 mm de longitud por 0,025-0,042 mm de anchura; el conducto deferente no se destaca con claridad en todos los anillos sino que únicamente se ve la porción próxima a la bolsa del cirro y en este lugar, es más o menos recto y delgado; la bolsa del cirro es piriforme y de paredes gruesas, mide en su extremo más ancho 0,037-0,042 mm y 0,066-0,106 mm de largo; en su interior se observan estructuras no muy precisas, que posiblemente correspondan a la vesícula seminal y a la glándula prostática. El cirro, no espinoso, es largo y ancho, mide 0,058 mm de largo y 0,012 mm de ancho; en el centro de su cuerpo se ve perfectamente el conducto eyaculador.

El ovario es un órgano en forma de abanico, fuertemente lobulado y constituído por dos grandes masas de folículos glandulares; está situado en la zona central y superior del proglótido, en algunos anillos es poral y en otros antiporal; no medimos su longitud porque de acuerdo con su morfología, dicha medida es muy variable, pero su anchura es de 0,216-0,306 mm. La glándula vitelógena es irregularmente esférica y ligeramente lobulada en comparación con el ovario; se encuentra por debajo de este órgano y mide 0,067-0,089 mm de

longitud por 0,119-0,142 mm de anchura; el receptáculo seminal es alargado y situado por detrás de la glándula vitelógena y a nivel de su porción superior, de él sale la vagina, conducto que se aprecia en muchos segmentos en la región del oviducto y que después se pierde para destacarse en las últimas porciones de su trayecto, por debajo del conducto deferente y la bolsa del cirro.

El atrio genital está en la porción superior de los segmentos y es irregularmente alterno; en él desembocan los poros genitales masculino y femenino.

Los proglótidos grávidos se diferencian perfectamente de los maduros porque van alargándose y empiezan a destacarse con precisión las cápsulas uterinas, a pesar de observarse aún los órganos genitales ya señalados. Estos segmentos se presentan al fin completamente llenos de cápsulas y apenas si se distinguen en algunos, el ovario y la glándula vitelógena y en otros el receptáculo seminal, la vagina y la bolsa del cirro. Miden 0,805; 0,894; 0,983 y 1,043 mm de largo por 0,551; 0,626; 0,626 y 0,715 mm de ancho; obsérvese según estos datos, que el alargamiento gradual de los anillos es mayor que el ensanchamiento. Las cápsulas uterinas son irregularmente esféricas, numerosas y cada una contiene un huevo.

Los conductos excretores son dorsales a los conductos genitales, observándose con toda claridad en los segmentos maduros, y cubiertos por las cápsulas uterinas en los grávidos.

HUÉSPED. *Didelphis marsupialis etensis.* Allen.
LOCALIZACIÓN. Intestino delgado.
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. Bello Horizonte, Escazú. Provincia de San José. Costa Rica. América Central. Ejemplares en la Colección del Laboratorio de Helmintología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional con el Nº 181-11 y en la Colección Helmintológica de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

Taenia taeniaeformis (Batsch, 1786) Wolffhügel, 1911

Este céstodo (fig. 14) es frecuente en el intestino delgado de los gatos de la ciudad de San José; y constituye en este trabajo, el primer reporte de la tenia adulta en nuestro territorio.

HUÉSPED. Gato (*Felis domestica* L.).
LOCALIZACIÓN. Intestino delgado.
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. Ciudad de San José, Costa Rica, América Central. Preparaciones en la colección helmintológica de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

DISCUSION

El género *Oochoristica* Lühe, 1898, fue creado para colocar "dos céstodos de saurios"; posteriormente, con base en los trabajos de un gran número

de investigadores, como BEDDARD (3), BURT (4), CHANDLER (5, 7), CHOUQUETE (8), FUHRMAN (13), HICKMAN (15, 16), JANICKI (19) y JOHRI (20, 21), se dan nuevos aportes al conocimiento genérico y se reportan nuevas especies. Por otra parte, JOYEUX (22), LOWEN (23), MILLEMAN (25), STEELMAN (26) y YAMAGUTI (30) dan nuevas luces al problema, hasta que en el año de 1956, DELLA SANTA (9), inicia una maravillosa reseña histórica sobre estos céstodos, de cuyo género se han creado numerosas especies.

Hasta 1927, BAER (1) considera que existen 22 especies del género; pero son MEGGITT (24), HSÜ (18) y HUGHES (17) los autores que hacen las consideraciones más importantes, tratando de precisar el número dado por Baer; mención merecen también los trabajos de DOLLFUS (10, 11, 12).

DELLA SANTA en su revisión genérica, nos aporta 57 especies válidas hasta 1956, en las que incluye ejemplares colectados en huéspedes mamíferos, saurios, ofidios y quelonios; enumera asimismo los diferentes criterios que han seguido los investigadores al respecto, analizando las ventajas y desventajas de los mismos en referencia a la clasificación de las especies del género que nos ocupa.

Ahora bien, nosotros estamos de acuerdo en que se debe recurrir a un conjunto de caracteres para la determinación de estas especies, pero tomando exclusivamente aquellos que sean de índole específica. Por lo tanto hemos analizado los caracteres que han formado los criterios de diferentes investigadores, consultando a BAYLIS (2), HSÜ (18), MEGGITT (24), STUNKARD y LYNCH (27), y por último DELLA SANTA (9), en 1956 y DOLLFUS (12), en 1957; de todos ellos, pensamos que son los siguientes conceptos los que deben analizarse al estudiar ejemplares del género *Oochoristica* Lühe, 1898.

I. Morfología y tamaño del proglótido maduro, en donde debe anotarse:

1) Morfología, tamaño y número de los testículos.
2) Posición de estos órganos en relación al complejo femenino.
3) Forma, tamaño y posición de la bolsa del cirro.
4) Morfología del cirro.
5) Posición del atrio genital y desarrollo histológico del mismo.
6) Constitución y morfología del ovario, diámetro transversal del mismo.
7) Constitución y morfología de la glándula vitelógena, diámetro transversal de la glándula.
8) Constitución y morfología del receptáculo seminal.
9) Distribución de los conductos excretores.

II. Morfología y tamaño del proglótido grávido, en el que hay que ver:

1) Desarrollo de las cápsulas uterinas.
2) Situación y número de las cápsulas.
3) Morfología y tamaño de estos órganos.
4) Morfología y tamaño del huevo.

III. Morfología del escólex, observando:

1) Forma y constitución de las ventosas. Tamaño de estos órganos.
2) Diámetro del escólex a la altura de las ventosas.

Las medidas son datos que deben tomarse con el mayor cuidado porque nos permiten establecer relaciones, según lo expresa DELLA SANTA (9) y que indican el grado de madurez de los órganos y de los segmentos incluídos en esas relaciones, claro está que serán un dato aproximado, si se toman como absolutas y tendrán algún valor si se dispone de numerosos ejemplares para poder determinar la variación, como lo hemos indicado anteriormente.

Por consiguiente, a los conceptos que mencionamos debe agregarse:

IV. Relación del diámetro transversal de las ventosas, al diámetro del escólex.

V. Relación entre la longitud de la bolsa del cirro y la anchura de los segmentos maduros.

Después de esta breve introducción, pasaremos a continuación a dar el resultado de nuestras investigaciones.

En los ejemplares estudiados, hemos llegado a la conclusión, que los colectados en el "toloque", lagartija del Estado de Tabasco, México, corresponden a *Oochoristica antrozoi* Voge, 1954, por las siguientes consideraciones:

1) Los proglótidos maduros son más anchos que largos, aunque la anchura máxima de los segmentos en nuestros especímenes sea de 1,103-1,371 mm, más o menos la mitad de las medidas proporcionadas por Voge.

2) Los testículos en número de 30-70 son ovoides, algunos esféricos; están situados en la región posterior y media del anillo y ascienden en dirección del complejo femenino, llegando hasta el límite de los lóbulos del ovario; caracteres que concuerdan con los del anoplocefálido del murciélago californiano, aunque difieren ligeramente en la forma, número y tamaño.

3) La bolsa del cirro es alargada, su tamaño coincide con el que presenta el céstodo que nos ha servido de comparación; está colocada en la zona superior y lateral del segmento, rodeada por una estructura histológica diferente a la observada en el anillo y que corresponde a la del atrio genital haciendo esta región tan prominente, que no hay diferencia muy marcada con la especie de Voge. Sin embargo, debemos aclarar que la bolsa descrita por este investigador, es muy ancha y casi el doble con respecto a las medidas que nosotros indicamos.

Al respecto, agregaremos que en los proglótidos grávidos del anoplocefálido del "toloque", hemos visto una bolsa más ancha y proporcionadamente ensanchada, en relación a la que se encuentra en los segmentos maduros; además, según la longitud de la bolsa obtuvimos la relación de dicha longitud y la anchura del anillo, coincidiendo por diferencia de una unidad con la relación

entre las mismas medidas, dadas en la descripción original de *O. antrozoi*. Deseamos resaltar la importancia de esta relación en el sentido de que nos permite apreciar el estado de la evolución del órgano que estamos discutiendo y como lo indica DELLA SANTA "elimina de manera notoria las diferencias entre las medidas absolutas máxima y mínima, diferencias imputables a los enormes estados de contracción de la bolsa del cirro"; nosotros creemos interpretar estas palabras refiriéndolas a la longitud y anchura del órgano. No tuvimos la oportunidad de apreciar vesícula seminal en el interior de tan mencionada bolsa.

4) No hay diferencias notables en la constitución, morfología y diámetro transversal del ovario.

5) La glándula vitelógena es asimismo similar y ligeramente más pequeña en su diámetro transversal.

6) El receptáculo seminal es pequeño y alargado. En la descripción original de *O. antrozoi* se cita la presencia de un receptáculo seminal que en posición y tamaño aproximado corresponde al de nuestros ejemplares.

7) Los proglótidos grávidos, con numerosas cápsulas uterinas, son en un principio más anchos que largos, posteriormente se van alargando y tienen una medida más o menos semejante a la indicada en la descripción del anoplocefálido de California.

8) En nuestros ejemplares, el diámetro del escólex a la altura de las ventosas es muy parecido al del céstodo dado por Voge y en la misma forma encontramos semejantes las relaciones de que hablamos anteriormente.

Los céstodos colectados en la iguana del Estado de Morelos, México, son *Oochoristica eumecis* Harwood, 1932 (14), y en la misma forma que hemos analizado a la especie anterior, procederemos al estudio de estos ejemplares:

1) Los segmentos maduros son más anchos que largos. Los testículos, de 70 a 110, son irregularmente esféricos, están situados en la porción media y posterior del anillo, limitados entre los conductos excretores y ascendiendo hasta el límite del ovario, coincidiendo en esa forma con la descripción de Harwood en 1932, aunque no en el número de testículos.

2) La bolsa del cirro, más o menos de la misma medida en longitud que la indicada para el anoplocefálido con el que comparamos nuestra especie, aunque en esta última su anchura sea mayor sobre todo en la parte media; el atrio genital se encuentra asimismo con un desarrollo semejante y localizado también superior y lateralmente en el anillo.

3) El ovario, central y ligeramente superior, es de constitución folicular, morfológicamente es similar y su medida coincide con la anotada para la especie colectada en Texas, en *Eumeces fasciatus*.

4) La glándula vitelógena y el receptáculo seminal forman un conjunto, en nuestros ejemplares, muy semejante a la descripción dada en el trabajo de Harwood.

5) Los proglótidos grávidos son más largos que anchos y en la redescripción damos los caracteres de los mismos, a los que hay que referirse en vista de no poder hacer una comparación, porque Harwood no describió estos segmentos.

6) Las medidas que nosotros anotamos para el escólex de los ejemplares que estudiamos se aproximan mucho a las de la especie de Harwood, pero en esta última al contrario de la nuestra, el escólex se distingue perfectamente del cuello. Así también, se encuentran aproximadas las relaciones mencionadas anteriormente en la introducción de esta discusión.

Los anoplocefálidos preparados por uno de nosotros y colectados del tlacuache en diferentes fechas en Bello Horizonte, Escazú, Provincia de San José, Costa Rica, son: *Oochoristica pennsylvanica* Chandler y Melvin, 1951.

1) Los proglótidos maduros son más anchos que largos, aunque los datos que se reportan para nuestros ejemplares sean más o menos la mitad de aquellos dados para la anchura máxima de *O. pennsylvanica.*

2) El número de testículos en los ejemplares de Chandler es muy semejante al de los nuestros, su forma y colocación también es muy parecida, ya que se distribuyen en dos campos laterales, aunque en algunos segmentos cubran además la zona posterior.

3) La bolsa del cirro es pequeña; no llega a los conductos excretores a pesar de que en algunos anillos, como excepción, se ha visto tocando estos conductos. Su tamaño es semejante en las dos especies.

4) No hemos observado diferencias en la constitución, morfología y diámetro del ovario.

5) La glándula vitelógena es una masa compacta, un poco más pequeña en este anoplocefálido del tlacuache costarricense.

6) Los proglótidos grávidos son más largos que anchos y aunque en la descripción original de *O. pennsylvanica,* se afirma que son más anchos que largos, nos debemos referir a lo que en nuestra redescripción indicamos, en el sentido de la formación y medidas de estos segmentos. Las cápsulas uterinas se distribuyen en todo el segmento como indica Chandler, destacándose únicamente la bolsa del cirro.

7) El escólex de nuestros céstodos es ligeramente mayor que el de los ejemplares de CHANDLER (6).

Las relaciones que mencionamos en los incisos 4, 5 y 6 nos permiten precisar la determinación específica en estos anoplocefálidos del género *Oochoristica.* Estas relaciones son aproximadas en las tres especies estudiadas en este trabajo y creemos que nos han dado la oportunidad de apreciar la variación de los órganos, que ha originado tanta confusión en el establecimiento de las especies.

En *O. pennsylvanica,* la relación C/Pr es 24,3 por ciento, según los datos que damos en su redescripción y, de 8-10 por ciento de acuerdo con las cifras dadas por Chandler. Por lo tanto, la diferencia se debe a que la bolsa del cirro es ligeramente mayor en nuestros ejemplares y la anchura de los segmentos de estos céstodos es menor y no debe tomarse como un carácter primordial para la descripción de una nueva especie. Sin embargo, la anatomía que observamos coincide en tal forma con el esquema que nosotros proponemos, que insistimos en que es esencial, pero que estas relaciones sean establecidas con datos

precisos, para que puedan tomarse como punto de comparación y sean una ayuda para apreciar la variación de los órganos de este grupo de helmintos.

RESUMEN

Se describen en esta contribución tres especies del género *Oochoristica* Lühe, 1898.

O. antrozoi Voge, 1954, de una lagartija "toloque" (especie indeterminada) de Tabasco, México.

O. ecumecis Harwood, 1932, de una iguana (*Ctenosaura pectinata* Wiegmann) de Alpuyeca, Morelos, México.

O. pennsylvanica Chandler & Melvin, 1951, de una zarigüeya, *Didelphis marsupialis etensis* Allen, de Bello Horizonte (Escazú) San José, Costa Rica.

Además, se proponen, con base en una revisión de la literatura, los conceptos que deben tomarse en cuenta al estudiar ejemplares del género *Oochoristica*.

SUMMARY

Three species of the genus *Oochoristica* Lühe, 1898, are re-described:

O. antrozoi Voge, 1954, found in a "toloque" lizard from the state of Tabasco, Mexico.

O. eumecis Harwood, 1932, collected in an iguana from Alpuyeca, state of Morelos, Mexico.

O. pennsylvanica Chandler & Melvin, 1951, from the oppossum *Didelphis marsupialis etensis* Allen, Bello Horizonte, Escazú, San José, Costa Rica.

The number of described species of *Oochoristica* has increased greatly since the genus was proposed in 1898. Many of these descriptions have been based on characters of little or no significance, resulting in abundant synonymy. Our revision of the literature and our observations lead us to acknowledge with Della Santa (9), some sixty valid species to date.

After reviewing the works of Baylis (2), Meggit (24), Hsü (18), Stunkard & Lynch (27), Dollfus (10, 11, 12), the following characters are proposed as critical in the study of species of *Oochoristica*.

I. Morphology of the mature proglottid, with:

1) Morphology, size, and number of testes.
2) Position of these organs.
3) Shape, size and position of the cirrus pouch.
4) Morphology of cirrus.
5) Position of genital atrium and histology of the same.
6) Morphology and constitution of the ovary as well as transversal diameter of the same.

7) Morphology and constitution of the vitelline gland as well as the transversal diameter of this gland.
8) Morphology and constitution of the seminal receptacle.
9) Distribution and arrangement of the excretory ducts.

II. Morphology and size of the gravid segments, with:

1) Development of the uterine capsules.
2) Position and number of the capsules as well as its morphology.
3) Morphology and size of the ova.

III. Morphology of the scolex, with:

1) Shape and constitution of the suckers, size of these organs.
2) Transverse diameter of the scolex, at the level of the suckers.

The measurements should be taken very carefully, because they can be used in certain ratios, as DELLA SANTA states, which indicate the degree of maturity of the organs and the segment. Certainly these measurements represent approximative data if they are taken as "absolute", and they will have a value only when there are many specimens to work with. Then the following criteria, should be added to the characters listed above:

IV. Ratio of the transversal diameter of the suckers to the diameter of the scolex.
V. Ratio of the length of the cirrus pouch to the with of ripe segments.
VI. Ratio of the transversal diameter of the ovary to the with of ripe segments.

These ratios are usefull in the estimation of the variability of the organs, which has originated much confusion in the establishment of new species.

REFERENCIAS

1. BAER, J. G.
1925. *Contributions to the helminth fauna of South Africa.* Thèse prèsentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel pour obtenir le grade docteur ès sciences. 1-79, figs. 1-43. Université de Neuchâtel.

2. BAYLIS, H. A.
1919. On two new species of the cestode genus *Oochoristica* from lizards. *Parasitology* 11:405-414, pl. 21.

3. BEDDARD, F. E.
1914. Contributions to the anatomy and systematic arrangement of Cestoidea. On two new species belonging to the genera *Oochoristica and Linstowia,* with remarks upon these genera. *Proc. Zool. Soc. London.* 2:263-283.

4. BURT, D. R. R.
1933. *Oochoristica lygosomae* sp. nov. A cestode from the Lizard *Lygosoma punctatum*. *Ceylon Jour. of Scien., B.* 18:1-7, 2 fig.

5. CHANDLER, A. C.
1942. The helminths of racoons in East Texas. *J. Parasitol.* 28:255-268.

6. CHANDLER, A. C. and D. M. MELVIN
1951. A new cestode, *Oochoristica pennsylvanica*, and some new and rare helminth records from Pennsylvania mammals. *J. Parasitol.* 37:106-109.

7. CHANDLER, A. C.
1952. Two new species of *Oochoristica* from Minnesota skunks. *Amer. Mid. Nat.* 48:69-73.

8. CHOQUETTE, L. P. E.
1951. Helminthes parasites trouvés chez la mouffette *Mephitis mephitis* dans la province de Quebec. *Canadian J. Comp. Med.* 15 (3):62-64.

9. DELLA SANTA, E.
1956. *Revision du genre pl. Oochoristica Lühe* (*Cestodes*). Thèse prèsentée a la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel pour obtenir le grade de docteur ès sciences biologiques. 1-113, figs. 1-3. Université de Neuchâtel.

10. DOLLFUS, R. P. H.
1932. Mission saharienne Augieras-Draper, 1927-28. Cestodes de reptiles. *Bull. Museum. hist. nat.* (Paris) Sér. 2, 4:539-554.

11. DOLLFUS, R. P. H.
1954. Miscellanea helminthologica maroccana XVIII. Quelques cestodes du groupe *Oochoristica* auctorum recoltés au Maroc, avec une liste des cestodes des hérissons (Erinaceidae) et une liste des saurins et ophidiens (exclus Amérique et Australie) ou ont été trouvés des *Oochoristica*. *Arch. Inst. Pasteur Maroc* 4 (9):657-711.

12. DOLLFUS, R. P. H.
1957. Miscellanea helminthologica maroccana XIX-XXII. *Arch. Inst. Pasteur Maroc* 5 (7):272-299.

13. FUHRMANN, O.
1924. Two new species of reptilian cestodes. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 18:505-513. 2 fig.

14. HARWOOD, D. P. D.
1932. The helminths parasitic in the amphibia and reptilia of Houston, Texas and vicinity *Proc. U. S. Nat. Mus.* 81 art. 17:1-71.

15. HICKMAN, J. L.
1954. Two new cestodes (genus *Oochoristica*) one from the lizard, *Egernia whitii*, the other from the bat *Nyctophilus geoffroyi*. *Pap. Proc. Roy. Soc. Tasm.* 88:99-104.

16. HICKMAN, J. L.
1955. Arrangement of the female organs and ducts in the cestode genera *Oochoristica* Lühe and *Linstowia* Zschokke. *Pap. Proc. Roy. Soc. Tasm.* 89:99-105.

17. HUGHES, R. C.
1940. The genus *Oochoristica* Lühe, 1898. *Am. Midl. Nat.* 23:368-381.

18. HSÜ, H. F.
1935. Contributions à l'étude des Cestodes de Chine. *Rev. Suiss. Zool.* 42:477-570, 68 figs.

19. JANICKE, C. VON
1906. Studien an Saugetiercestoden. *Zeitsch. Zool.* 81:505-597. 15 figs. pl. XX-XXV.

20. JOHRI, L. N.
1950. Report on cestodes collected in India and Burma. *Indian Jour. of Helminth.* 2 (1):23-24.

21. JOHRI, L. N.
1955. On a new cestode *Oochoristica hemidactyli* from the common wall lizard *Hemidactylus flaviviridis* Rupell. *Proc. Indian Acad. Scien.* Section B 41 (2):79-81.

22. JOYEUX, C. ET. HOUDEMER
1927.
1928. Recherches sur la faune helminthologique de l'Indochine (Cestodes et Trématodes). *Ann. Parasit.* 6:27-58.

23. LOWEN, S. L.
1940. On some reptilian cestodes of the genus *Oochoristica* (Anoplocephalidae). *Trans. Amer. Micr. Soc.* 59, 511-518.

24. MEGGITT, F. J.
1934. One some tapeworms from the bull snake (*Pityopsis sayi*) with remarks on the species of the genus *Oochoristica* (Cestoda) *J. Parasit.* 20:182-189.

25. MILLEMAN, R. E.
1955. Studies on the life-history and biology of *Oochoristica deserti* n. sp. (Cestoda: Linsttowiidae) from desert rodents. *J. Parasit.* 41 (4):424-440.

26. STEELMAN, G. M.
1939. *Oochoristica whitentoni,* a new anoplocephalid cestode from a land tortoise. *J. Parasit.* 25:479-482.

27. STUNKARD, H. W. and W. F. LYNCH
1944. A new anoplocephaline cestode *Oochoristica anniellae* from the Californian limbless lizard. *Trans. Amer. Micr. Soc.* 63:165-169.

28. VOGE, M. and W. FOX
1950. A new anoplocephalid cestode *Oochoristica scelopori.* n. sp. from the Pacific fence lizard *Scelopurus occidentalis. Trans. Amer. Micr. Soc.* 69 (3):236-242.

29. VOGE, M
1954. *Oochoristica antrozoi* n. sp., a tapeworm from the pallid bat in California. *Trans. Amer. Micr. Soc.* 73 (4):404-407.

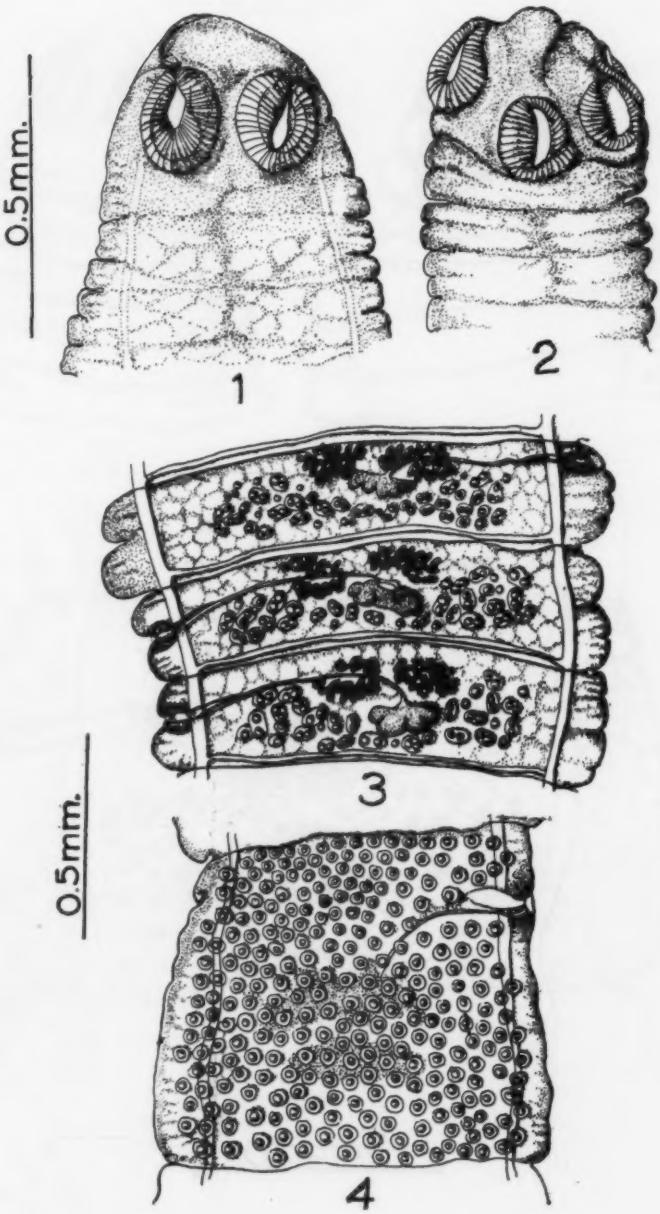
30. YAMAGUTI, S.
1954. Parasitic worms mainly from Celebes. Part. 7 Cestodes of reptiles. *Acta Medicinæ Okayama* 8 (4): 375-385.

Oochoristica antrozoi Voge, 1954

Figs. 1 y 2: Escolex.

Fig. 3: Proglótidos maduros.

Fig. 4: Proglótido grávido.


0.5mm.
1
2
3
0.5mm.
4

Oochoristica eumecis Harwood, 1932

Figs. 5 y 6: Escolex.

Fig. 7: Proglótido maduro.

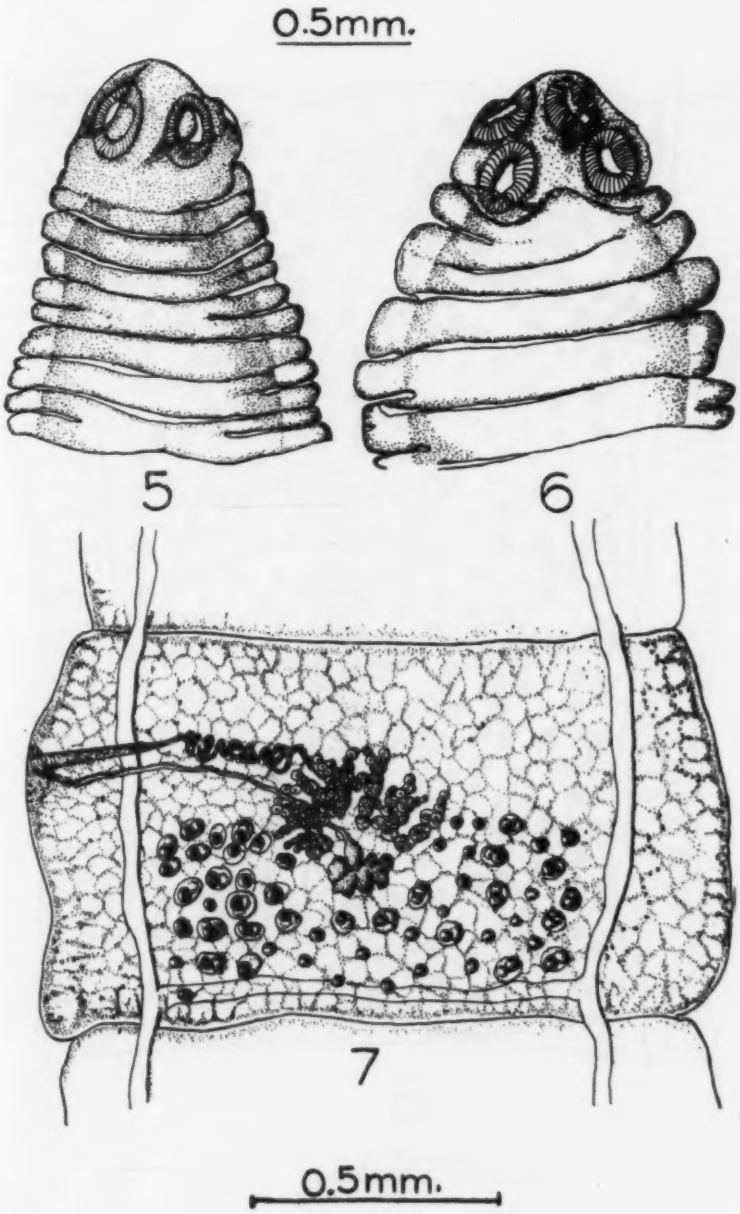
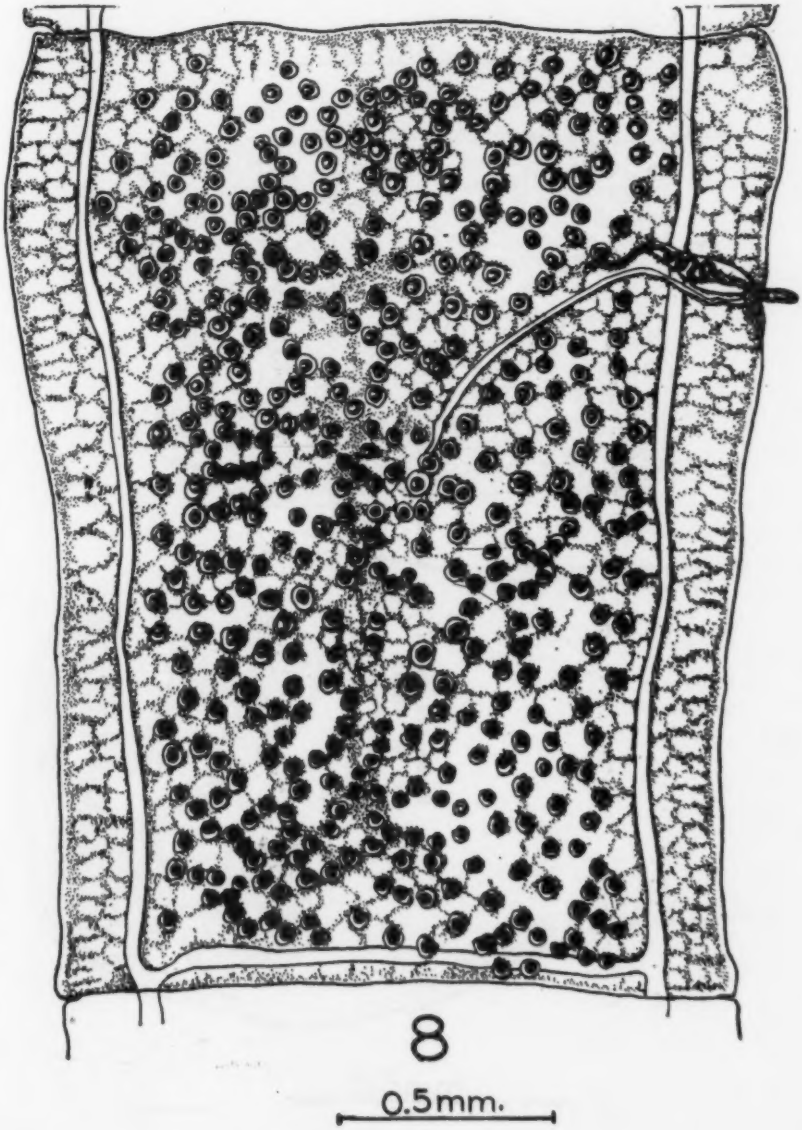

0.5mm.
5
6
7
0.5mm.

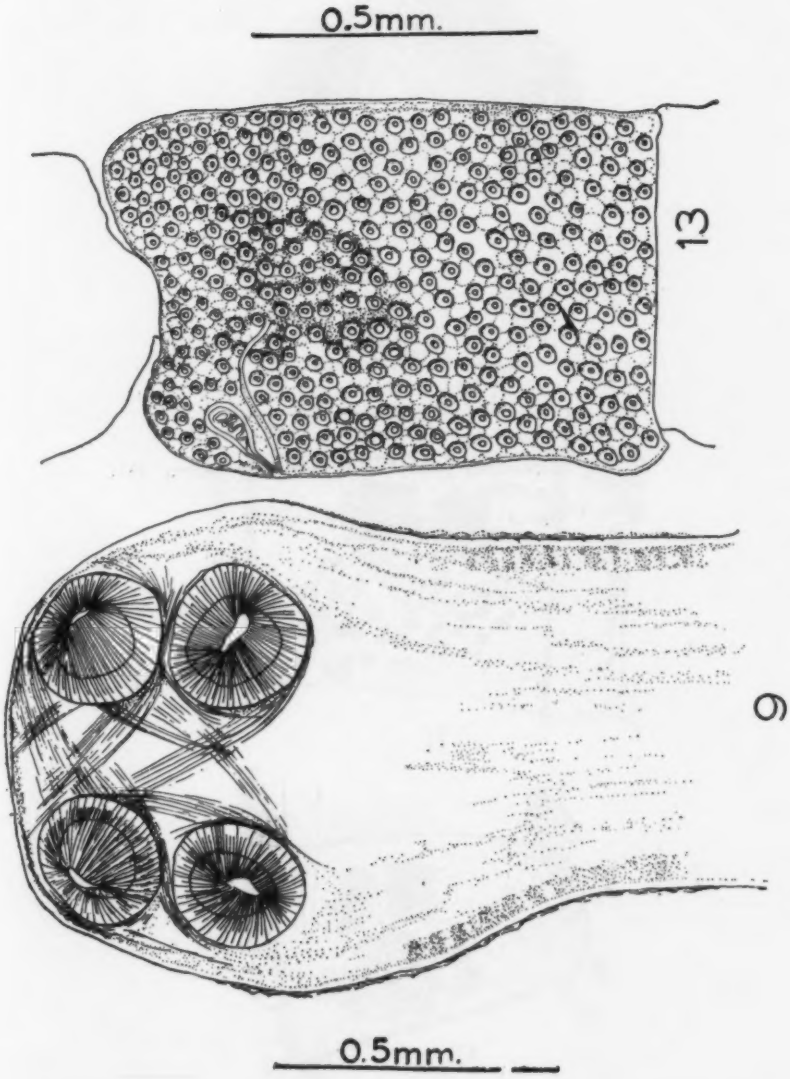
Fig. 8: Proglótido grávido.


8
0.5mm.

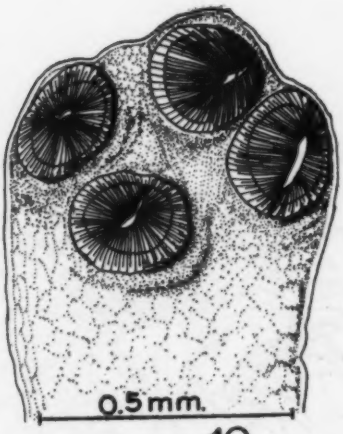
Oocbotistica pennsylvanica Chandler y Melvin, 1951

Fig. 9: Escolex.

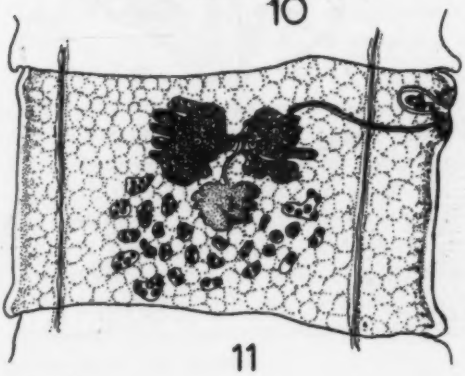
Fig. 13: Proglótido grávido.


0.5mm.
13
9
0.5mm.

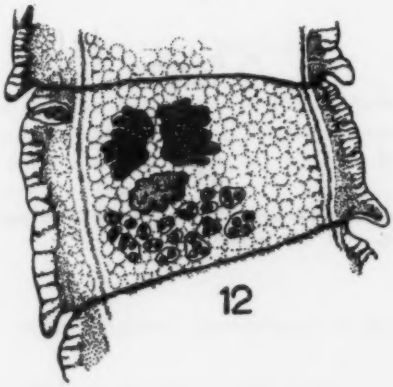
Oochoristica pennsylvanica Chandler y Melvin, 1951
Fig. 10: Escolex.
Figs. 11 y 12: Proglótidos maduros.



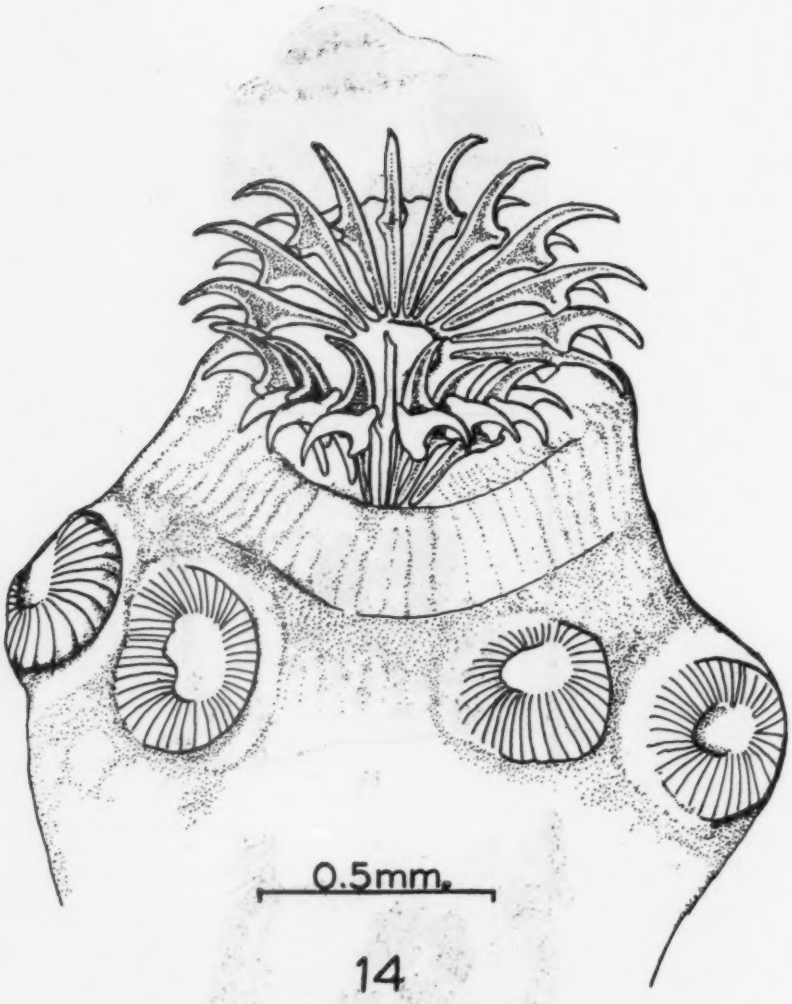
10



11



12



Taenia taeniaeformis (Batsch, 1786) Wolffhügel, 1911
Fig. 14: Escolex.

Rev. Biol. Trop. 6(1):79-86, 1958.

Estudio bacteriológico en las otitis crónicas infantiles*

por

Roger Bolaños**

(Recibido para su publicación el 30 de junio de 1958)

Durante el año de 1954 se realizaron, en el laboratorio bacteriológico del Ministerio de Salubridad Pública, alrededor de cincuenta investigaciones bacteriológicas en niños con lesiones supurativas de los oídos, sobre las cuales hemos basado el presente trabajo.

Debido al estado tan avanzado de infección que presentaban muchos pacientes y a la imposibilidad de realizarles un cuidadoso estudio clínico, no se logró en la mayoría de los casos un diagnóstico concreto. Sin embargo, es de sospechar que se trataba de otitis media supurativa puesto que los datos de la Sección de Estadística Hospitalaria del mismo Ministerio y los de la Consulta de Otorrinolaringología del Hospital San Juan de Dios nos dan este tipo de otitis en el 90 por ciento de pacientes con infecciones auditivas que acuden a consulta. Cabe también la posibilidad de que la lesión se originara en una otitis externa que evolucionó hasta abarcar el oído medio, o que se tratara de un estado más avanzado como una mastoiditis.

MATERIAL Y METODOS

Para realizar el presente trabajo se tomaron 50 niños con lesiones supurativas de los oídos, provenientes de la Consulta Externa del Hospital San Juan de Dios. Sus edades fluctuaban entre 1 y 6 años; 30 de ellos de sexo masculino y los 20 restantes femenino.

La secreción fue recogida con un hisopo de algodón estéril y suspen-

---

* Trabajo realizado en el Laboratorio Bacteriológico del Ministerio de Salubridad Pública.

** Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

dida en una pequeña porción de caldo, a partir de la cual se realizaron las siguientes operaciones:

1) Observación a fresco entre lámina y laminilla.

2) Coloración de Gram, azul de metileno de Löffler y, en un caso con historia de tuberculosis pulmonar, Ziehl-Neelsen.

3) Inoculación por rayado de placas de agar sangre, agar eosina azul de metileno, Staphylococcus Medium Nº 110 y, cuando había bacilos de morfología semejante al bacilo de Klebs-Löffler, una placa de telurito de potasio de KELLOG & WENDE (9), siguiendo las recomendaciones de FROBISHER *et al.* (4).

4) Inoculación de un caldo de infusión de corazón y medio de tioglicolato, modificado, de Brewer.

5) En el caso que tenía historia de tuberculosis se inoculó, a partir del material tratado por el método de Petroff, un tubo de medio de Löwenstein-Jennsen y un tubo de agar sangre penicilina de TARSHIS (18).

Cuando la presencia de bacilos móviles, Gram negativos, hizo imposible el aislamiento de cocos Gram positivos en la placa de agar sangre, debido a su crecimiento invasor, inoculamos un tubo de medio de tioglicolato con dextrosa al 1 por ciento, a partir de alguno de los caldos, según las recomendaciones de SCHAUB & FOLEY (17). En los pocos casos en que este procedimiento no dio resultado inoculamos una placa de agar sangre con 0,25 ml de hidrato de cloral al 5 por ciento, resolviendo en esta forma la dificultad.

Todos los organismos aislados fueron identificados, dentro de lo posible, de acuerdo con el manual de BERGEY (2). En la identificación final de enterobacterias nos guiamos por KAUFFMANN (8) y en la caracterización de *Pseudomonas* por KING *et al.* (10), SCHAUB & FOLEY (17) y TOPLEY, WILSON & MILES (19).

RESULTADOS

Todos nuestros 50 casos presentaron infecciones crónicas, con un tiempo de padecer que fluctuó entre los 2 meses y 5 años. Casi todos ellos se encontraban bajo tratamiento a base de antibióticos y agentes quimioterápicos (cuadro 1), sin presentar ninguna mejoría aparente.

CUADRO 1

Tratamiento previo a los análisis de laboratorio en 50 casos de otitis supurativa crónica

Agente terapéutico	Número de casos	Porcentaje del total de casos
Penicilina	43	86
Aureomicina	2	4
Cloromicetina	2	4
Sulfas*	39	78
Desconocido	3	6

*Sulfatiazol, sulfadiazina y triplesulfa.

El 80 por ciento de los enfermos (40 casos) presentaban, concomitantemente o poco tiempo antes de iniciarse la supuración auditiva, enfermedades de las vías respiratorias; éstas se encontraban clasificadas en las hojas clínicas como bronquitis, faringitis, rinitis, bronconeumonía, tosferina, amigdalitis y gripe.

Los microorganismos encontrados fueron clasificados en nueve grupos diferentes y su frecuencia se expone en el cuadro 2. Estos gérmenes representan únicamente aquellos capaces de dar lugar a procesos infecciosos del oído, pues no hemos tomado en cuenta los que no desempeñan papel patógeno debido a pertenecer a la flora normal del oído externo, o bien por presentarse eventualmente en el sitio de la lesión por una contaminación exógena; ellos son estafilococos con pruebas de patogenicidad negativas (coagulasa, fermentación de manitol, licuefacción de gelatina y producción de pigmento), bacilos difteroides y miembros de género *Bacillus*. En ningún caso estos microorganismos eran los únicos presentes en la lesión, sino que, por el contrario, siempre se aisló algún otro, de reconocido poder patógeno, a quien responsabilizar por la infección.

Entre las 25 cepas de *Proteus* encontramos representantes de las cuatro especies actualmente reconocidas, siendo *P. vulgaris* el que se presentó con una mayor frecuencia (17 cepas).

De las 22 cepas de *Staphylococcus aureus* 20 dieron todas las pruebas de patogenicidad positivas, mientras que dos presentaron la prueba de coagulasa negativa; en estos dos casos fueron obtenidos otros gérmenes, tales como *Pseudomonas* y enterobacterias que posiblemente eran los responsables por la lesión.

CUADRO 2

Frecuencia de los principales gérmenes encontrados

Agente	Número de cepas	Porcentaje
TOTAL	106	100
Proteus	25	23,6
Staphylococcus aureus	22	20,8
Streptococcus	22	20,8
Pseudomonas	17	16,0
Escherichia	10	9,4
Klebsiella	6	5,7
Hemophilus influenzæ	2	1,9
Neisseria catarrhalis	1	0,9
bacilos ácido resistentes*	1	0,9

*En frotis.

La gran mayoría de los estreptococos obtenidos pertenecen a los tipos alfa y gama hemolíticos y solamente una cepa presentó hemólisis tipo beta en el agar sangre.

De las 17 cepas de *Pseudomonas* aisladas, 14 fueron identificadas como *P. aeruginosa* por la producción de pigmento en los medios de KING *et al.* (10); las tres restantes no lo produjeron por lo que optamos por considerarlas como *Pseudomonas* sp. Comparando la producción de pigmento en los medios de KING *et al.*, con la obtenida en agar nutritivo, agar infusión de corazón y agar triptosa, pudimos comprobar las observaciones de dichos autores en el sentido de que muchas de las cepas que no dan lugar a la producción de pigmento en los medios corrientes si lo hacen al ser sembradas en aquellos de los autores citados.

El resto de las cepas de enterobacterias que fueron aisladas de la lesión suman un número considerable (16 cepas). Entre ellas las 10 reportadas como *Escherichia* comprenden 5 cepas de *E. coli*, 2 de *E. freundii* y 3 coliformes aberrantes, lentos fermentadores de lactosa. Una de las cepas de *E. coli* se comportó como las del grupo 026:K60(B6) al aglutinar con el suero de este grupo, tanto viva como calentada a 100° C durante una hora.

La presencia de dos casos con *Hemophilus influenzæ* y uno con *Neisseria catarrhalis* ha venido a comprobarnos, una vez más, la importancia de la contaminación del oído medio a través de la trompa de Eustaquio (7) (11) (13) (14).

A pesar de investigar la presencia de neumococos, bacilo de Löffler y asociación fuso-espirilar, organismos corrientemente asociados a otitis media

supurativa (7) (11) (13) (14), no nos fue posible demostrarlos en ninguno de los casos.

De los niños estudiados 30 presentaron una infección polimicrobiana, obteniéndose en algunos hasta seis gérmenes diferentes. Comprobamos que el número de géneros aislados de un caso dado estaba en relación directa con la duración de la enfermedad, excepción hecha de aquellos en que se aisló *P. aeruginosa.* Los 20 pacientes restantes presentaron sólo un microorganismo capaz, a nuestra manera de ver, de dar lugar a la infección. Su frecuencia la anotamos en el cuadro 3.

A pesar de que uno de nuestros pacientes mostró la presencia de bacilos ácido resistentes en la lesión, no fue posible obtener cultivo a partir del material, después de 30 días de incubación a 37° C.

CUADRO 3

Frecuencia de los microorganismos presentes en 20 casos de otitis monomicrobianas

Microorganismo	N° de cepas	Porcentaje
TOTAL	20	100
Proteus	7	35
Staphylococcus aureus	6	30
Pseudomonas	5	25
Streptococcus	1	5
E. coli	1	5

CONCLUSIONES

El cuadro bacteriológico de las otitis que hemos presentado difiere fundamentalmente de aquellos reportados por la mayoría de los autores que consultamos, los cuales señalan como agentes principales de la lesión a neumococos (5) (13) (14), estreptococos β hemolíticos (6) (7) (11) (12) (16) (20) y estafilococos dorados (1) (7) (11), sin llegar a un acuerdo sobre cual es el más frecuente de los tres. Sin embargo, todos ellos han trabajado con casos de otitis aguda, algunas de las cuales eran manifestaciones secundarias de una otra enfermedad previamente establecida como escarlatina; también algunos dirigieron

la investigación hacia un sólo microorganismo y, finalmente, los trabajos han sido realizados en países climatéricamente diferentes al nuestro como lo son Suecia, Noruega, Alemania, Dinamarca, Finlandia, Inglaterra y Estados Unidos de América, donde posiblemente predomine un tipo de flora bacteriana diferente al que se presenta en las regiones tropicales como la nuestra; por otro lado, creemos que las costumbres sanitarias y el nivel socio-económico de sus enfermos los diferencia nítidamente de los casos objeto de este estudio. Todas estas consideraciones hacen difícil comparar sus resultados con los de este trabajo; además, la flora que ellos reportan es esencialmente primaria, mientras que la nuestra es producto de invasiones secundarias, por ulterior contaminación de la lesión, que desplazan los microorganismos específicos dando lugar a gérmenes de asociación que posiblemente son los que encontramos.

Creemos conveniente investigar nuestros casos de otitis supurativa aguda con el fin de determinar en nuestro medio los agentes primarios de la lesión.

La alta incidencia de *Proteus* y *Pseudomonas*, a semejanza de los hallazgos de otros investigadores en otras afecciones (3) (15) (21), obedece al hecho de que la gran mayoría de los pacientes se encontraba en tratamiento a base de penicilina, antibiótico al cual son naturalmente resistentes y que les permite actuar sin ningún obstáculo (21).

De nuestros resultados se desprende la necesidad imperiosa de emplear medios selectivos para el aislamiento de los diferentes gérmenes presentes en nuestras otitis crónicas, pues la alta frecuencia de *Proteus* y *Pseudomonas* impiden la obtención de cultivos puros al invadir totalmente las placas de los medios generales no selectivos.

RESUMEN

Se realizó un estudio bacteriológico en 50 niños que padecían de otitis crónica supurativa, lográndose aislar un total de 106 organismos capaces de producir la lesión. El gérmen que con más frecuencia se aisló fue *Proteus* (las cuatro especies), siguiéndole *Staphylococcus aureus, Streptococcus* (α o γ hemolíticos), *Pseudomonas* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella, Hemophilus influenzæ, Neisseria catarrhalis* y bacilos ácido resistentes (únicamente en frotis).

Solamente 20 de los pacientes presentaron infecciones monomicrobianas, mientras que el resto presentó un número variable de gérmenes que en algunos casos llegó hasta seis.

Se señala la necesidad de emplear en los estudios bacteriológicos de otitis crónica, medios selectivos para evitar la invasión de las placas por bacilos móviles Gram negativos.

SUMMARY

A bacteriological study was made of 50 children with chronic suppurative otitis; 106 species capable of causing the lesion were isolated. The organism occurring most frequently was *Proteus* (all four species), followed

by *Staphylococcus aureus, Streptococcus* (α or γ hemolytic), *Pseudomonas* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella, Hemophilus influenzæ, Neisseria catarrhalis,* and acid-resistant bacilli (in smears only).

Only 20 of the 50 patients showed mono-microbian infections; the rest showed variable numbers of organisms, up to six in some cases.

The need is pointed out, of using selective media in bacteriological studies of chronic otitis, in order to prevent the spread of Gram-negative organisms.

BIBLIOGRAFIA

1. ANÓNIMO
1941. Chemotherapy in acute otitis media. *Brit. Med. J.* (4200):20-21. Res. en *Biol. Abstr.* 15 (9):22201, 1941.

2. BREED, R. S., E. G. D. MURRAY & A. P. HITCHENS
1948. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 6 ed. XVI + 1529 pp. The Williams & Wilkins C° Ed. Baltimore, U. S. A.

3. FRANK, P. F., C. WILCOX & M. FINLAND
1950. In vitro sensitivity of *Bacillus proteus* and *Pseudomonas aeruginosa* to seven antibiotics (Penicillin, Streptomycin, Bacitracin, Polymyxin, Aerosporin, Aureomycin, and Chloromycetin). *J. Lab. Clin. Med.* 35:205-214.

4. FROBISHER, M. JR., E. I. PARSON, E. L. YEATES & K. L. GAY
1948. A comparative study of tellurite plating media for *Corynebacterium diphteriæ. Amer. J. Hyg.* 48:1-5.

5. GILMAN, B. B. & W. A. BAYLOR
1938. A community outbreak of type I *Pneumococcus* infection. *Amer. J. Hyg.* 28: 345-358.

6. HENNINGSEN, E. J. & J. ERNEST
1939. Milk epidemic of scarlet fever angina, originating from a milkmaid with scarlatinal otitis media. *J. Hyg.* (Lond.) 39:51-59.

7. JACKSON, C. & C. L. JACKSON
1945. *Diseases of the nose, throat and ear.* XIV + 844 pp. W. B. Saunders C° Ed., U. S. A.

8. KAUFFMANN, F.
1954. *Enterobacteriaceæ.* 2nd. ed., 382 pp. Ejnar Munksgaard Ed., Copenhagen, Dinamarca.

9. KELLOG, D. K. & R. D. WENDE
1946. Use of a potassium tellurite medium in the detection of *C. diphteriæ.* Reimpreso de *Amer. J. Publ. Hlth.* 39:739-?.

10. KING, E. O., M. K. WARD & D. E. RANEY
1954. Two simple media for the demostration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44:301-307.

11. LEDERER, F. L.
1953. *Enfermedades del oído, nariz y garganta.* Trad. Española, 1ª ed., XVIII + 1112 pp. Salvat Ed., España.

12. MOE, R.
1943. Regarding the causes of the variations in the clinical course of acute inflamations in the middle ear. *Acta oto-laryng.* (*Stockh.*) 31:173-222.

13. NIELSEN, J. C.
1942. Beitrag zur Aetiologie der Badeotitis. *Acta oto-laryng.* (*Stockh.*) 30:234-247.

14. NIELSEN, J. C.
1945. Badeotitis, Aetiologie, Symptomatologie und Pathogenese. *Acta oto-laryng.* (*Stockh.*) 33:31-35.

15. POTEE, K. G., S. S. WRIGHT & M. FINLAND
1954. *In vitro* susceptibility of recently isolated strains of *Proteus* to ten antibiotics. *J. Lab. Clin. Med.* 44:463-477.

16. RUNTZ, L. A. & W. M. M. KIRBY
1943. Enterococcic infections. *Arch. intern. Med.* 71:516-528.

17. SCHAUB, I. G. & M. K. FOLEY
1952. *Diagnostic bacteriology.* 4th ed., 356 pp. The C. V. Mosby Cº Ed., U. S. A.

18. TARSHIS, M. S.
1953. Blood mediums for cultivation of *Mycobacterium tuberculosis.* V. Results with agar-agar basal medium and varying concentrations of blood, glycerine and penicillin. *Amer. J. Clin. Path.* 23:661-670.

19. TOPLEY, W. W. C., G. S. WILSON & A. A. MILES
1949. *Bacteriología e Inmunidad.* Trad. española. 2ª ed., tomo I. XXIV + 958 pp. Salvat Ed. España.

20. WESSELHOEFT, C.
1939. Factors influencing the incidence and course of otitis media in scarlet fever. *Ann. intern. Med.* 12:1473-1485.

21. YOW, E. M.
1952. Development of *Proteus* and *Pseudomonas* infections during antibiotic therapy. *J. Amer. Med. Ass.* 149:1184-1188.

Rev. Biol. Trop. 6(1):87-93, 1958.

Contribución al estudio del género Phytomonas Donovan en Costa Rica

I. Phytomonas tortuosa n. sp.

por

Armando Ruiz*

(Recibido para su publicación el 30 de junio de 1958)

Buscando fitómonas en muy diversas plantas lacticíferas para un estudio que de las mismas estamos realizando, encontramos en el látex de un higuerón, el *Ficus costarricana* (Liebmann) Miquel[1] unos flagelados, en escaso número, con las características de las fitómonas. Este higuerón es un árbol frondoso que se utiliza para dar sombra en nuestros potreros, sirviendo así de refugio al ganado. El higuerón que encontramos parasitado está plantado en un potrero en las afueras de Santa Ana, villa situada a unos 10 kms. de San José. De todos los higuerones de esta especie que hemos examinado, solamente un ejemplar más mostró flagelados en el látex y crece también en la región ya indicada.

El parasitismo es discreto y sólo algunas ramitas del árbol estaban parasitadas, no mostrando ningún signo patológico.

DESCRIPCION

En preparaciones a fresco de látex, entre lámina y laminilla, se distinguen bien las fitómonas que presentan un movimiento de traslación muy lento y muchos ejemplares menean únicamente el flagelo que es corto. Se aprecia también que el cuerpo está doblado helicoidalmente, como en todos los representantes de este grupo de flagelados.

En preparaciones coloreadas con Giemsa el parásito muestra las características de la forma leptómonas. Se observa un cuerpo acintado, que se tuerce helicoidalmente. Estos dobleces del cuerpo varían desde uno hasta siete, siendo las

---

* Cátedra de Protozoología de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

[1] Clasificado por el Ing. Agr. Alfonso Jiménez, del Museo Nacional de Costa Rica, a quien agradecemos su colaboración.

formas más corrientes las que tienen 4 a 5 dobleces. Sin embargo se encuentran algunas formas con el cuerpo no torcido, las que en general son pequeñas. El cuerpo presenta una longitud que varía entre 16μ y 34,5μ, siendo el promedio 23μ. El grosor del cuerpo es de 1,5μ (1,3μ - 3,3μ). En el extremo anterior se origina el flagelo que mide de 2μ a 12μ. Como se ve, el flagelo es corto, la gran mayoría de las formas tienen un flagelo que oscila alrededor de las 6,5μ. El blefaroplasto esférico, subesférico o baciliforme, de cerca de 0,6μ de tamaño, está colocado a una distancia del extremo anterior que varía entre 1,3μ a 2μ, en general 2,5μ. El núcleo es un corpúsculo alargado que mide en su mayor diámetro 1,5μ; se pueden encontrar núcleos más pequeños, de 1,3μ y núcleos que miden hasta 2,6μ en su mayor eje. La distancia entre el blefaroplasto y el extremo anterior del núcleo es de 3,3μ término medio, siendo el espacio más pequeño que se ha encontrado de 1,3μ y el mayor de 6μ. El extremo posterior del parásito termina en punta y dista del polo posterior del núcleo de 8μ a 25,5μ, en general unas 17μ. El flagelado se reproduce por división longidutinal, de la manera típica en estos protozoarios. Todos nuestros intentos de cultivar el flagelado han sido infructuosos.

TRASMISOR: No hemos podido incriminar insecto alguno como posible trasmisor del parásito.

HABITAT: *Ficus costarricana* (Liebmann) Miquel.

LOCALIDAD: Santa Ana, Provincia de San José, Costa Rica.

El flagelado descrito se diferencia notablemente de los otros descritos en este grupo de plantas, por lo que lo hemos considerado una especie nueva denominándolo *Phytomonas tortuosa* por ser la especie que más torsiones presenta de todas las que hasta ahora se conocen.

DISCUSION

Revisando la literatura nos encontramos que son muy pocos los trabajos que existen sobre flagelados parástidos de plantas del género *Ficus*. La primera referencia la hace FRANCHINI (5) en abril de 1922, cuando informa haber encontrado en *Ficus benjamina* raros "tripanosomas" pequeños, como textualmente indica, que recuerdan a aquellos de las euforbias. La planta en cuestión crecía en los invernaderos del Museo de París. El autor examina otras especies de *Ficus* del mismo invernadero, reportando en una planta de *Ficus tholloni* parásitos leishmaniformes o alargados, a veces muy alargados, pero que no presentan flagelo. Esto es todo lo que el autor menciona al respecto, lo que apenas permite sospechar la presencia de fitómonas en las citadas plantas.

En mayo de 1922 FRANCHINI (6) describe en *Ficus carica*, en París, una ameba que presenta un estado flagelar, siendo que, pensamos nosotros, las formas flagelas bien podrían ser fitómonas.

En junio de 1922 aparece otro trabajo de FRANCHINI (7) en que describe los flagelados que parasitan el látex de un ejemplar exótico de *Ficus parietalis* cultivado en el invernadero del Museo de París. El autor recalca el interés de hacer tal descripción, ya que no existía hasta entonces referencia alguna concreta sobre flagelados parásitos de urticáceas, a no ser sus notas publicadas anteriormente. Los flagelados se muestran sobre todo en el látex del fruto, donde se observan formas flageladas y aflageladas, que Franchini clasifica como *Herpetomonas*. Los elementos flagelados poseen un flagelo corto y fino, no tienen el cuerpo doblado helicoidalmente, aunque algunas formas presentan una torsión en la mitad del cuerpo. Franchini refiere que las formas de herpetómonas son las menos abundantes, y que por el contrario, las formas más numerosas son las de tripanosoma, con un flagelo a veces bastante largo y con una membrana ondulante bien manifiesta y plegada. Llama también la atención sobre la presencia de critidias típicas. De acuerdo con las conocimientos actuales que tenemos sobre los tripanosomátidos parásitos de plantas, nos resulta muy difícil aceptar la presencia de tales formas en este grupo de parásitos.

En 1923 FRANCHINI (8) reporta sus hallazgos en un ejemplar de *Ficus benjamina* del jardín botánico de Ferrara, Italia, encontrando formas flageladas y aflageladas, en general pequeñas (11 micras de longitud máxima). El autor considera formas de leptomonas y de herpetomonas.

En 1925 FANTHAM (3) (4) encuentra en algunas pocas plantas de *Ficus edulis*, en Johannesburg, Africa del Sur, un flagelado que él denomina *Herpetomonas ficuum*, tratándolo WENYON (14) en 1926 dentro del género *Phytomonas* Donovan (2) 1909, *emend.* Wenyon (13), 1920. El parásito presenta formas aflageladas y flageladas, siendo las primeras más cortas y anchas. Estas fitómonas se diferencian de las descritas por nosotros por ser más pequeñas y por poseer un flagelo más largo que el cuerpo.

En 1928, BANCROFT (1) reporta sus hallazgos sobre flagelados en algunas plantas lacticíferas de Queensland, Australia, entre ellas el *Ficus scabra*. Bancroft envió preparados del látex de esta planta a HOLMES (11) quien en 1931 publica un trabajo cuidadoso del flagelado en cuestión y lo describe como *Herpetomonas bancrofti*, señalando como característica sobresaliente de esta especie el hecho de que los flagelados forman cadenas hasta de más de 20 individuos o se encuentran formando pares, constituyendo las formas aisladas únicamente un 48 por ciento de todos los elementos. Los individuos que forman cadena son pequeños, de 5 a 10 micrones de longitud en cuanto que los aislados varían entre 5 y 24 micrones. El flagelo tiene una longitud promedio de cerca de 8 décimos de la longitud del cuerpo. El núcleo está colocado a 2,4μ del extremo anterior término medio y en medio de este espacio se encuentra el blefaroplasto. Como se ve, esta especie se diferencia fácilmente de la nuestra. Nosotros consideramos a este flagelado descrito por Holmes dentro del género *Phytomonas* siendo su denominación *Phytomonas bancrofti* (Holmes, 1931).

Un poco más tarde, también en 1931, FRANCHINI (9) (10) describe un nuevo flagelado que él estudia en preparaciones de látex de *Ficus hochstetteri*, que le envía el Dr. Ganora de Asmara (Eritrea). FRANCHINI denomina al

flagelado *Herpetomonas* (*Leptomonas*) *ganorae,* el que se caracteriza por presentar también cadenas de hasta más de 20 individuos. La descripción es incompleta y de las medidas de algunos pocos parásitos que el autor da, podemos deducir que se trata de un flagelado grande, de 21 a 52,5 micrones de longitud. El flagelo es también largo, 15 y 18 micrones de longitud. Raramente se observan torsiones en el cuerpo y el extremo posterior es muy fino, dando el aspecto de ser otro flagelo. Franchini indica que el flagelado se reproduce por división transversal en vez de longitudinal, lo que es muy difícil de aceptar. El mismo Franchini incluye entre los dibujos que presenta formas en división longitudinal. En todo caso, de los datos que se tiene de esta especie es posible diferenciarla de la nuestra y de la *Ph. bancrofti.* Este flagelado lo trasladamos también al género *Phytomonas* quedando por lo tanto como *Phytomonas ganorae* (Franchini, 1931).

En 1935, HOLMES (12) publica un trabajo sobre el mecanismo de formación de cadenas en la *Phytomonas bancrofti,* donde confirma su punto de vista de que las tales extructuras se originan por divisiones longitudinales sucesivas y no por división transversal como piensa Franchini.

A continuación damos una lista de las especies de *Ficus* que se han reportado como huéspedes de fitómonas.

Ficus benjamina	Paris, Francia	*Phytomonas sp.?*	(Franchini, 1922)
Ficus tholloni	Paris, Francia	*Phytomonas sp.?*	(Franchini, 1922)
Ficus carica	Paris, Francia	*Phytomonas sp.?*	(Franchini, 1922)
Ficus parietalis	Paris, Francia	*Phytomonas sp.*	(Franchini, 1922)
Ficus benjamina	Ferrara, Italia	*Phytomonas sp.*	(Franchini, 1923)
Ficus edulis	Johannesburg, Africa del Sur	*Phytomonas ficuum*	(Fantham, 1925)
Ficus scabra	Queensland, Australia	*Phytomonas bancrofti*	(Holmes, 1931)
Ficus hochstetteri	Asmara, Eritrea	*Phytomonas ganorae*	(Franchini, 1931)
Ficus costarricana	Santa Ana, Costa Rica	*Phytomonas tortuosa* n. sp.	

RESUMEN

Se describe una nueva especie de fitómonas que parasita el látex del *Ficus costarricana* (Liebmann) Miquel. El autor propone para esta especie el nombre de *Phytomonas tortuosa,* por ser la especie que más torsiones presenta de todas las que hasta ahora se conocen. Se da una lista de las especies del género *Ficus* que han sido reportadas como huéspedes de fitómonas.

SUMMARY

A new species of phytomonad is described, found as a parasite in the latex of *Ficus costarricana* (Liebmann) Miquel.

The name *Phytomonas tortuosa* is proposed for this species as it presents more torsions than any other species known to date.

A list is given of species of *Ficus* reported as hosts for phytomonads.

BIBLIOGRAFIA

1. BANCROFT, T. L.
   1928. Flagellates in certain Queensland plants. *Proc. Roy. Soc. Queensland.* 39:22.

2. DONOVAN, C.
   1909. Kala-Azar in Madras, especially with regard to its connexion with the dog and the bug (Conorhinus). *Lancet,* 177:1495-1496.

3. FANTHAM, H. B.
   1925. Some parasitic protozoa found in South Africa. VIII. *South African Jour. Sci.* 22:346-354.

4. FANTHAM, H. B.
   1926. Some Flagellates in plants. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 19:347-348.

5. FRANCHINI, G.
   1922. Flagellés et amibes d'une Urticacée exotique, *Ficus parietalis. Bull. Soc.* préliminaire). *Bull. Soc. Path. Exot.* 15:197-203.

6. FRANCHINI, G.
   1922. Sur une amibe des figuiers de plein air de la région parisienne et sa culture. *Bull. Soc. Path. Exot.* 15:287-292.

7. FRANCHINI, G.
   1922. Flagellés et amibes d'une Urticacée exotique, *Ficus parietalis. Bull. Soc. Path. Exot.* 15:399-404.

8. FRANCHINI, G.
   1923. Sur un flagellé particulier d'une Urticacée, *Ficus benjamina. Bull. Soc. Path. Exot.* 16:650-652.

9. FRANCHINI, G.
   1931. Etude sur un flagellé spécial du latex d'un figuier de l'Erythrée (*Ficus hochstetteri* (Mg.) A. Rich.). *Bull. Soc. Path. Exot.* 24:843-848.

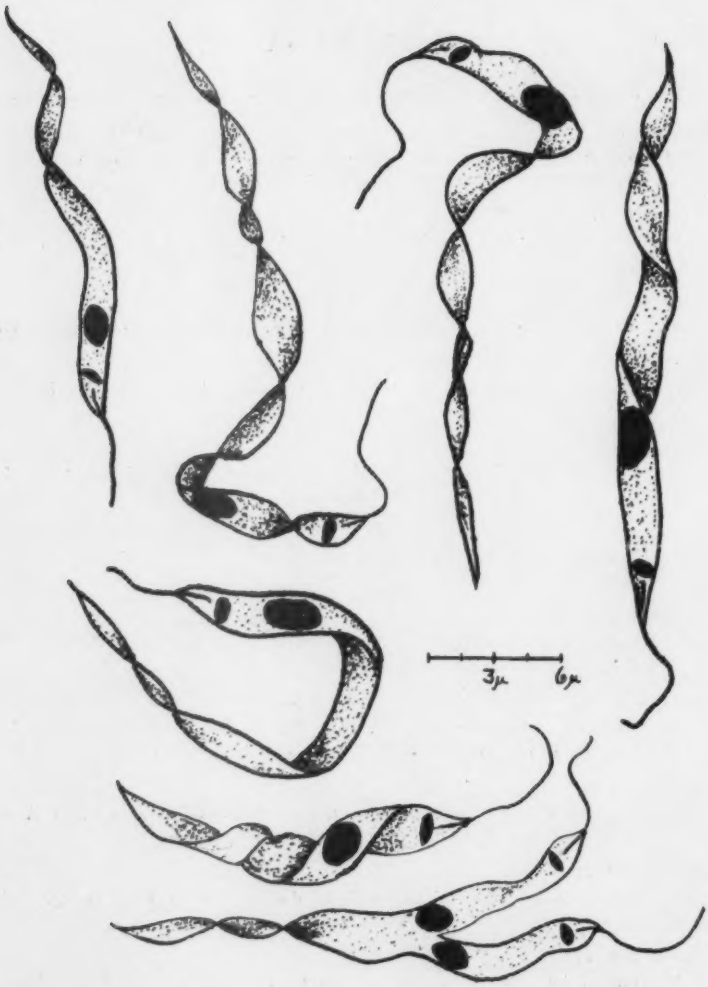
10. FRANCHINI, G.
    1931. Su di un Flagellato speciale del lattice del Ficus hochstetteri (Mig.) A. Rich. *Arch. Ital. Sci. Med. Col.* 12:637-643.

11. HOLMES, F. O.
    1931. *Herpetomonas bancrofti* n. sp. from the latex of a Ficus in Queensland. *Contrib. from Boyce Thompson Inst. for Plant Research.* 3:375-383.

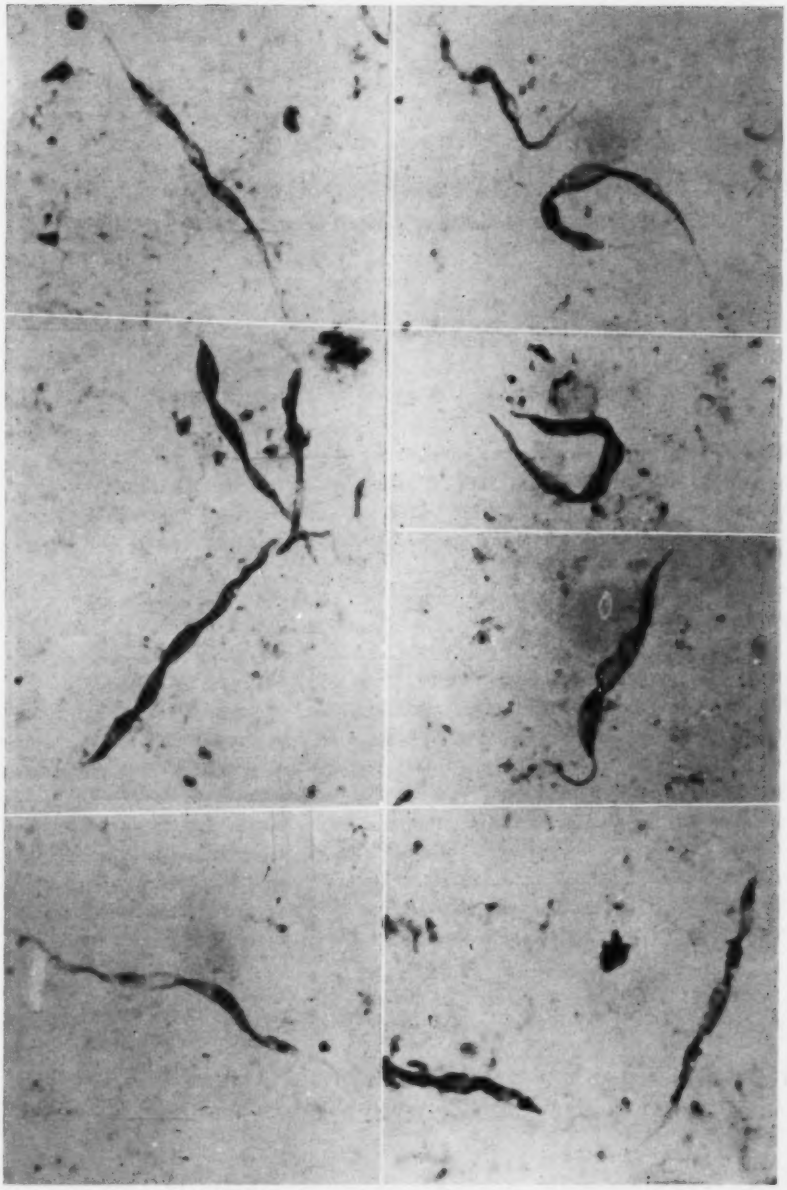
12. HOLMES, F. O.
    1935. Method of chain formation in *"Herpetomonas bancrofti". Parasitology* 27: 394-398.

13. WENYON, C. M.
    1920. Observations on the intestinal protozoa of three egyptian lizards, with a note on a cell-invading fungus. *Parasitology* 12:350-365.

14. WENYON, C. M.
    1926. *Protozoology* 2 Vols. XVI + IX + 1563 pp. Baillière, Tindall & Cox, London.



Phytomonas tortuosa: diversas formas del organismo, dibujadas a cámara clara.



Phytomonas tortuosa: microfotografías de diversas formas. (1800 ×)

Rev. Biol. Trop. 6(1):95-98, 1958.

Algunas consideraciones sobre clonorquiasis sinensis y un método simple para su diagnóstico

por

Otto Jiménez-Quirós*

(Recibido para su publicación el 11 de julio de 1958)

Aunque el parasitismo por *Clonorchis sinensis* esté confinado a ciertas regiones endémicas del Extremo Oriente y, por razones ecológicas particulares de sus hospederos intermediarios, no haya podido establecerse aún en otras regiones del globo, presenta para nosotros un problema diagnóstico de alguna importancia.

La colonia china residente en América Latina está compuesta en su gran mayoría por individuos procedentes de la costa sur de la China Meridional y en especial de Cantón, foco endémico entre los más importantes.

Ya KOURÍ (1) en Cuba, desde 1935 llamó ampliamente la atención sobre la alta incidencia de clonorquiasis en chinos residentes en La Habana, lo mismo que la importancia de los exámenes de heces seriados, por concentración, o de exámenes de bilis obtenidos por intubación duodenal.

Nosotros proponemos un método muy simple y altamente seguro, para establecer el diagnóstico 48 horas después de sospechada la infección, y del cual no conocemos mención en la literatura disponible.

Mencionaremos algunos aspectos clínicos, inherentes a la enfermedad, para llamar la atención sobre ciertos síntomas que deben guiar a la sospecha de clonorquiasis y podemos proceder entonces a la identificación de los huevos en las materias fecales.

MATERIAL CLINICO

Se trata de tres casos, vistos en el transcurso de un mes. Los tres enfermos procedían de Masaya (Nicaragua) y eran oriundos de Cantón (China).

* Cátedra de Helmintología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

CASO Nº 1. A. Q. L. De 62 años. Estuvo en Cantón por última vez hace 24 años. Nunca padeció trastornos digestivos ni hepatobiliares. Pérdida de peso en los últimos años. Trastornos circulatorios (taquicardia paroxística) y nerviosos. Fue visto por tal motivo en cinco clínicas de los Estados Unidos durante los últimos dos años, en donde le practicaron todo tipo de exámenes de laboratorio, radiografías y exámenes endoscópicos del aparato digestivo. Conclusión diagnóstica: neurosis, hepatitis crónica.

CASO Nº 2. A. Q. CH. De 33 años. Estuvo en Cantón por última vez hace 9 años. Padecimiento hepatobiliar febril en tres ocasiones (a los 14, 16 y 19 años). Durante los últimos cinco años: hipoclorhidria y dolores epigástricos, pérdida de peso y notables trastornos nerviosos. Visto hace pocos meses en una clínica norteamericana, se le practicaron exámenes, radiografías y estudio particular del aparato digestivo. Conclusión diagnóstica: neurosis, hepatitis crónica.

CASO Nº 3. E. CH. CH. De 29 años. Estuvo en Cantón por última vez hace 9 años. Ningún trastorno digestivo, a no ser a los cinco años, bajo forma de fiebre biliosa diagnosticada como tifoidea. Vista en una clínica de los Estados Unidos por nerviosismo acentuado, se le practicaron todo tipo de exámenes y se llegó a la conclusión diagnóstica de que se trataba de hipertiroidismo tóxico.

Los tres casos en discusión acudieron a nuestra consulta bajo forma de pacientes calificados como "nerviosos" y por recomendación de otra paciente nicaragüense que había obtenido mejoría de síntomas similares recibiendo tratamiento antiamibiano.

Conociendo el lugar de origen y la frecuencia con que la infección crónica por *Clonorchis* produce síntomas como los acusados, y una vez practicado el examen clínico, establecimos el diagnóstico de clonorquiasis, procediéndose luego a realizar los exámenes de laboratorio. Las pruebas de funcionalidad hepática, en particular, indican un ligero daño glandular y los leucogramas, por el nivel eosinofílico elevado, en grado diverso, la participación parasitaria en el proceso crónico del hígado.

Es sabido que el *Clonorchis sinensis*, tremátodo de las vías biliares, vive a expensas, ya sea de las secreciones hepáticas (bilis) o de sus numerosas sustancias metabólicas intrínsecas. En los casos de infección crónica el órgano sufre lesiones regresivas y degenerativas que pueden culminar hasta con la neoplasia, lo que disminuye la capacidad genésica del mismo parásito. Por tal motivo decidimos suministrar por vía parentérica un complejo lipotrópico-antitóxico concentrado de acción rápida[1] a fin de mejorar el medio ambiente del tremátodo

---

[1] Se usó el producto Detoxan concentrado de los Laboratorios "Hormona" S. A. de México.

y estimular su ovipostura, a la vez que aumentar las funciones secretorias glandulares que permiten una mayor eliminación de bilis.

Como los exámenes de heces habían sido, hasta ese momento, siempre negativos, como es frecuente en las infecciones de vieja data, y sin reinfecciones, suministramos 2 cc de Detoxan concentrado por vía parenteral, para practicar 48 horas después los exámenes de heces según la técnica de concentración de RITCHIE (2) y el recuento de huevos según el método de STOLL (3).

En los tres casos los resultados fueron altamente satisfactorios:

En el Nº 1 el recuento arrojó la cifra de 500 huevos de *Clonorchis sinensis* por gramo de heces.

En el Nº 2: 1000 huevos por gramo de heces.

En el Nº 3: 400 huevos por gramo de heces.

Los resultados obtenidos confirmaron nuestra hipótesis y por la simplicidad del método consideramos que su uso puede ser de suma utilidad también para médicos genéricos y laboratoristas.

AGRADECIMIENTO

El autor agradece la colaboración prestada, para realizar los exámenes de laboratorio, a los Lics., R. Brenes M., Pedro L. Vieto y J. M. Jiménez, todos de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

RESUMEN

Basándose en el estudio de tres casos de chinos residentes en Nicaragua, el autor considera que ante síntomas generales, particularmente nerviosos, en personas provenientes de la China Meridional y en especial de Cantón, en cuya historia aparezcan o no trastornos previos o presentes hepatobiliares, debe sospecharse la clonorquiasis sinensis.

Una vez sospechada esta parasitosis hepática, como trátase la mayoría de las veces de casos crónicos y es poco probable el hallazgo de huevos en los exámenes de heces seriados y aún concentrados, procédase al suministro de un complejo lipotrópico-antitóxico inyectado, lográndose así una alta positividad en las materias fecales, sin deber recurrir a la intubación duodenal, no siempre cómoda de practicar ambulatoriamente.

SUMMARY

Three cases are reported of chinese residents in Nicaragua showing nervous disorders; two of then had been diagnosed in American clinics as chronic hepatitis patients.

Their Cantonese origin and the symtomatology suggested the possibility of clonorchiasis sinensis. Stool tests had been negative for *Clonorchis*. A simple procedure was then tried out which gave good results: that of injecting a lipotropic complex and examining the feces 48 hours later. In such circumstances all three patients showed abundant *Clonorchis* eggs.

BIBLIOGRAFIA

1. KOURÍ, P.
1949. *Lecciones de Parasitología y Medicina Tropical.* Tomo II. 3ª Ed. 856 pp. La Habana, Cuba.

2. RITCHIE, S. L.
1948. *Bull. V. S. Army Med. Department* 8(4):326.

3. STOLL, N. R. & HAUSHEER, W. C.
1926. Accuracy in the Dilution Egg-counting Method. *Am. Jour. Hyg.* 6 March suppl., 80-113.

Rev. Biol. Trop. 6(1):99-102, 1958.

Protozoarios parásitos de la boca en Costa Rica

por

Armando Ruiz*

(Recibido para su publicación el 3 de julio de 1958)

Entre octubre de 1953 y junio de 1954 tuvimos la oportunidad de examinar la boca de 236 pacientes en busca de *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax*. No obstante que dichos microorganismos se consideran simples comensales, juzgamos de interés el hacer una encuesta en tal sentido, ya que no existe entre nosotros informe alguno sobre la incidencia de dichos parásitos bucales. Los exámenes se llevaron a cabo en la Sección de Parasitología del Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios, institución en donde trabajábamos en ese entonces.

MATERIAL Y METODOS

Las personas que nos sirvieron para este estudio eran pacientes, internados en el Hospital o de Consulta Externa, que por una u otra causa eran enviados a nuestro Servicio. Estos provenían de las más diversas regiones del país; sin embargo la mitad de ellos procedían de la provincia de San José. El grupo examinado era en su mayoría gente campesina. Examinamos tanto varones como mujeres, así como niños y adultos. La casi totalidad de las personas sometidas a nuestro estudio mostraron condiciones higiénicas muy precarias de la boca y casi todas presentaban dientes cariados.

Para realizar el examen procedimos a tomarle a cada paciente cuatro muestras de diferentes regiones de la boca. Recogimos el sarro acumulado en la base de los dientes y detritos de los intersticios dentales. Este material se suspendió en una gota de solución de eosina al uno por ciento y efectuamos la observación inmediatamente.

RESULTADOS OBTENIDOS

Entre los 236 casos estudiados encontramos 155 que albergaban *Entamoeba gingivalis* o sea el 65,6 por ciento. Las condiciones higiénicas de la boca,

* Cátedra de Protozoología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

como ya dijimos, eran malas, sin embargo 20 de las personas examinadas guardaban una buena higiene bucal, limpiándose los dientes regularmente después de las comidas con cepillo y algún dentrífico, según nos informaron. Seis de estas veinte personas presentaron *Entamoeba gingivalis* lo que nos da un 30 por ciento y sólo una tenía *Trichomonas tenax* dándonos un porcentaje de 5. Si comparamos estos resultados con los obtenidos en los 216 casos restantes en los que predominan las malas condiciones higiénicas de la boca y dentro de los cuales 149 (68,9%) presentaban *Entamoeba gingivalis* y 30 (13,8%) *Trichomonas tenax,* vemos que la incidencia de dichos protozoarios aumenta con el desaseo bucal.

En un paciente con prótesis total hallamos en el material recogido entre los intersticios de los dientes artificiales trofozoitos de la entameba.

En el cuadro 1 podemos apreciar que la incidencia de ambos protozoarios es más o menos lo misma en todo el país, si comparamos los resultados obtenidos para la provincia de San José con los resultados en conjunto de las seis provincias restantes.

CUADRO 1

Incidencia de Entamœba gingivalis *y de* Trichomonas tenax *por provincias*

Provincias	Nº de casos observados	*Entamœba gingivalis*		*Trichomonas tenax*	
		Nº positivos	% positivos sobre casos observados	Nº positivos	% positivos sobre casos observados
TOTALES	236	155	65,6	31	13,1
San José	118	79	66,9	14	11,8
OTRAS PROVINCIAS					
TOTAL PARCIAL	118	76	64,6	17	14,4
Limón	31	20	64,5	6	19,3
Guanacaste	31	22	70,9	3	9,6
Puntarenas	29	16	55,1	3	10,3
Alajuela	20	13	65,0	3	15,0
Cartago	4	3	75,0	2	50,0
Heredia	3	2	66,6	—	—

En el cuadro 2 se nota una incidencia más baja para las mujeres que para los varones; sin embargo no se puede llegar a una conclusión definitiva hasta tanto no se investigue en un número representativo de mujeres.

CUADRO 2

Incidencia de Entamœba gingivalis *y de* Trichomonas tenax *por sexo*

Sexo	Nº de casos observados	*Entamœba gingivalis*		*Trichomonas tenax*	
		Nº positivos	% positivos sobre casos observados	Nº positivos	% positivos sobre casos observados
TOTALES	236	155	65,6	31	13,1
Mujeres	49	17	34,6	2	4,0
Varones	187	138	73,7	29	15,5

En el cuadro 3 presentamos la incidencia por grupos de edades. Tanto para la *Entamoeba gingivalis* como para la *Trichomonas tenax* se observa una incidencia menor en niños y adolescentes.

CUADRO 3

Incidencia de Entamœba gingivalis *y de* Trichomonas tenax *por grupos de edades*

Grupos de edades	Nº de casos observados	*Entamœba gingivalis*		*Trichomonas tenax*	
		Nº positivos	% positivos sobre casos observados	Nº positivos	% positivos sobre casos observados
TOTALES	236	155	65,6	31	13,1
5-10	40	21	52,5	3	7,5
11-20	50	29	58	4	8
21-30	32	22	68,7	4	12,5
31-40	33	22	66,6	6	18,1
41-50	27	21	77,7	4	14,8
51-60	33	23	69,6	7	21,2
61-70	13	11	84,6	2	15,3
71-80	8	6	75	1	12,5

Los trofozoitos de *Entamoeba gingivalis* se reconocen fácilmente entre los micelios, células epiteliales, piocitos y detritos de diversa naturaleza. La actividad de esta ameba es muy variable, así, pudimos observar trofozoitos con movimiento activo direccional, otras veces con movimientos lentos no direccionales, tipo *Entamoeba coli,* y en otros casos no emitían pseudópodos del todo. Las dimensiones que observamos varían considerablemente, así los ejemplares más pequeños que encontramos medían 5μ de diámetro y los más grandes 60μ. En general, todos los trofozoitos presentan un ectoplasma hialino bien diferenciado, apreciándose elementos cuyo ectoplasma constituye cerca del 60 por ciento de todo el citoplasma. El endoplasma granuloso contiene diversos corpúsculos y fragmentos de micelio. Los trofozoitos de *Entamoeba gingivalis* son bastante resistentes; en preparaciones que dejamos en cámara húmeda a temperatura ambiente pudimos observar trofozoitos vivos aún después de 48 horas.

Entre las 236 personas examinadas encontramos únicamente 31 que estaban parasitadas con *Trichomonas tenax,* o sea un 13,1 por ciento. Estos 31 pacientes albergaban concomitantemente *Entamoeba gingivalis.* Los trofozoitos de este flagelado, en los casos en que se encontró, siempre eran escasos. Todos poseían cuatro flagelados anteriores y una membrana ondulante corta.

SUMMARY

The occurrence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* was investigated in patients of Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica, mostly from rural areas, about one half of the total number being from the province of San José. Both sexes and all age groups, from childhood to old age, were represented. Four samples were taken from different parts of the mouth, and the material was suspended in a drop of eosin solution and examined immediately. *Entamoeba gingivalis* was present in 155 out of the total of 236 patients (65,5%) including 6 out of 20 who practised good oral hygiene. *Trichomonas tenax* was found in 31 patients (13,1%), in all of whom *Entamoeba* was also present, and one of whom belonged to the group of 20 with good hygienic habits mentioned above.

Rev. Biol. Trop. 6(1):103-111, 1958.

Influencia de vitaminas y aminoácidos en el crecimiento y esporulación de Mycena citricolor, Phoma costarricensis, Cercospora coffeicola y Ceratostomella fimbriata

por

Ronald Echandi* y Eddie Echandi*

(Recibido para su publicación el 2 de julio de 1958)

Muy poco o nada se conoce acerca de los requerimientos nutritivos de los organismos que causan enfermedades de importancia económica en los cafetos. El Ojo de Gallo, La Quema, La Chasparria y La Llaga Macana, causadas respectivamente por *Mycena citricolor* (Berk. y Curt.) Sacc., *Phoma costarricensis* Ech., *Cercospora coffeicola* Berk. y Curt. y *Ceratostomella fimbriata* (Ell. & Halst.) J. A. Elliot; pueden considerarse hoy día como las enfermedades de mayor importancia económica en Costa Rica.

El estudio del crecimiento y la esporulación de estos organismos en medios sintéticos da una idea de las necesidades nutritivas, de estos hongos y además en muchos casos ayuda a la comprensión de las relaciones entre el huésped y el parásito, tan importantes en los trabajos de control.

El presente trabajo ha sido llevado a cabo con el objeto de obtener información referente a los requerimientos vitamínicos y de nitrógeno en forma de aminoácidos de estos cuatro patógenos, y de este modo acumular indirectamente información que permita conocer mejor las relaciones existentes entre estos hongos y las diferentes partes de la planta de café atacadas por ellos.

MATERIALES Y METODOS

Los cultivos usados fueron obtenidos de plantas de café mostrando síntomas típicos de cada una de las enfermedades. Una vez aislados los organismos en cultivo puro, se probó su patogenicidad y se les mantuvo para usarlos posteriormente en tubos de ensayo con agar papa dextrosa.

En el primer experimento con vitaminas se usaron cuatro cultivos de Phoma; WN°6, WN°6A, AWN°8 y BWN°8. El segundo y el cuarto se originaron del primero y tercero, siendo todos ellos bastante diferentes entre sí; del resto de los organismos solamente un cultivo fue usado.

El medio sintético básico usado en estos experimentos está formado por los siguientes compuestos: fuente de carbono 10 gm., glucosa se usó como fuente

* Departamento de Fitopatología de la Universidad de Costa Rica.

de carbono para todos los organismos excepto para *P. costarricensis* que esporuló mejor en xilosa (1); asparagina 2 gm., en los experimentos con aminoácidos ésta fue sustituída por el aminoácido correspondiente fosfato dibásico de potasio 1 gm., sulfato de magnesio con 7 H_2O,0,5 gm.; cloruro férrico 0,01 gm.; cloruro de zinc 0,01 gm.; cloruro de manganeso 0,01 gm. y agar 20 gm., éste fue purificado por el método de ROBBINS (4). Agua destilada hasta completar 1000 ml.

En los experimentos con diferentes fuentes vitamínicas se usaron las siguientes: clorhidrato de tiamina 1,0 gm.; riboflavina 0,5 gm.; clorhidrato de piridoxina 0,5 gm.; pantotenato de calcio 2,0 gm.; ácido para-aminobenzoico 0,5 gm.; niacinamida 2,0 gm.; i- inositol 4,0 gm.; ácido pimélico 4,0 gm.; cloruro de colina 2,0 gm.; ácido nucléico 5,0 gm.; y biotina 0,005 gm. Estas concentraciones fueron las mismas usadas por LEWIS (3) y corresponden a gm. por 1000 ml.

En los experimentos con aminoácidos se usó: ácido L-glutámico; L-arginina; asparagina; clorhidrato de cisteína; L-cistina; DL-fenilalanina; glicina; leucina; DL-serina L-tirosina L-triptófano; L-valina y DL-norvalina. Todos estos aminoácidos fueron empleados a la concentración de 0,75 gm. por 1000 ml.

El pH del medio fue ajustado con ácido clorhídrico e hidróxido de sodio a 6,6 antes de la esterilización, mediante un potenciómetro Beckman. Todos los medios fueron esterilizados en el autoclave a 15 lb. de presión durante 15 minutos.

Los experimentos en medio líquido se llevaron a cabo en Erlenmeyers de 150 ml. de capacidad, lavados con mezcla sulfocrómica; en cada frasco se colocaron 20 ml. del medio, luego éstos fueron tapados con algodón forrado en papel encerado, con el objeto de impedir la caída de hebras de algodón al líquido.

Cuando se usó medio sólido, 10 ml. fueron vaciados en platos de petri de 9,0 cm. de diámetro, previamente lavados con mezcla sulfocrómica.

Para la siembra de los hongos se utilizaron pedazos uniformes de micelio raspados con una asa de la superficie de colonias jóvenes creciendo en agar papa dextrosa. Los frascos y los platos una vez sembrados fueron colocados en mesas largas de modo que estuvieran expuestos a luz y temperatura uniformes.

Una vez finalizados los experimentos se decantó el líquido sobrante, se lavó el micelio y se mantuvo en un horno durante 24 horas a 80º C., por último se tomó el peso seco del micelio. Los pesos promedios fueron obtenidos del micelio de cuatro frascos. En los experimentos en medio sólido el diámetro promedio se obtuvo midiendo cuatro colonias desarrolladas en platos de petri.

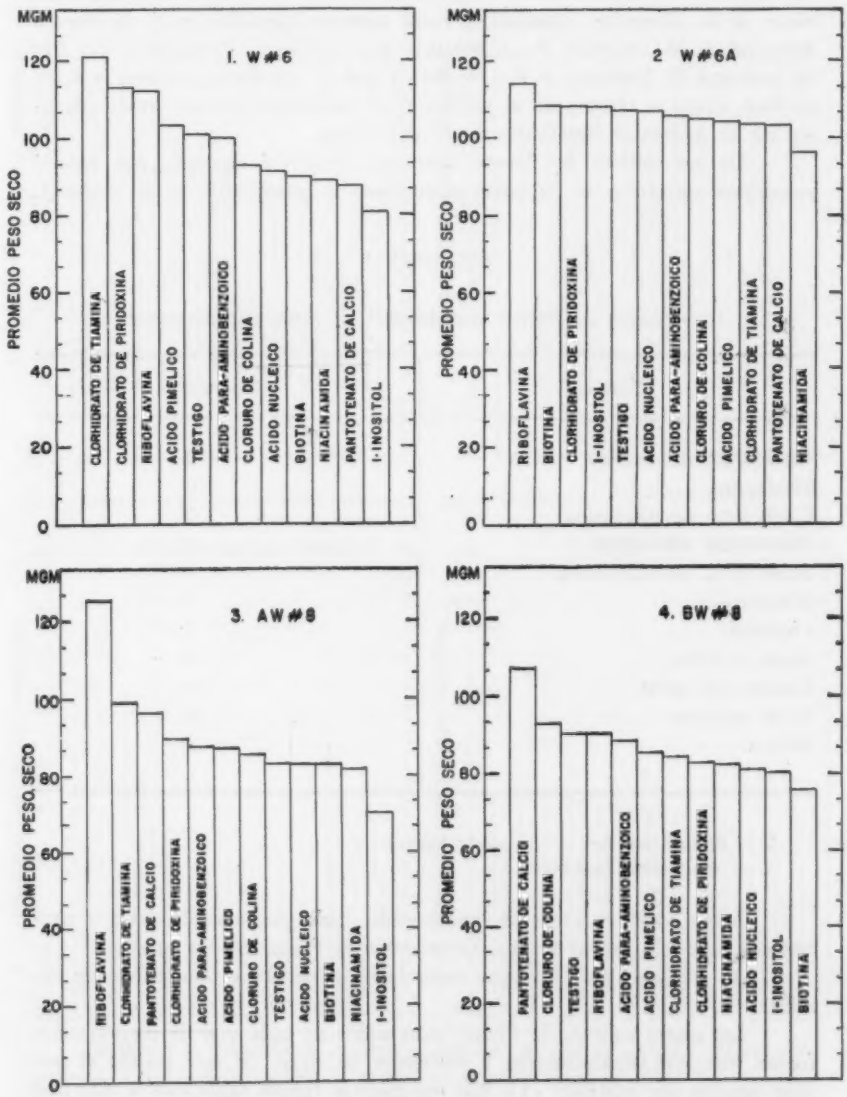
RESULTADOS

RESPUESTA A LAS DIFERENTES VITAMINAS

CRECIMIENTO:

En los experimentos con *Phoma* WNº6, WNº6A, AWNº8 y BWNº8; la adición de vitaminas al medio no mejoró significativamente el crecimiento

del hongo (gráficos 1, 2, 3 y 4). Esto indica que los cultivos no son deficientes en ninguna de las vitaminas usadas, se puede notar además que ninguna de las vitaminas inhibió el crecimiento del hongo.



Gráficos 1-4: Promedio de peso seco de cuatro cultivos de las cepas WN°6A, AWN°8 y BWN°8 de *Phoma costarricensis* en medio líquido con diferentes vitaminas.

ESPORULACIÓN:

Con el objeto de observar el efecto de las diferentes vitaminas en la esporulación de *M. citricolor, P. costarricensis, C. coffeicola* y *C. fimbriata,* éstos organismos fueron sembrados en medios sólidos. La incorporación al medio básico de las diferentes vitaminas no causó aumento apreciable en el crecimiento diametral de *M. citricolor, P. costarricensis* y *C. coffeicola* (gráficos 5, 6 y 8); sin embargo *C. fimbriata* sí fue favorecida por la adición de tiamina y ácido nucléico, como se observa en el gráfico 7; el crecimiento en las demás vitaminas no se diferenció significativamente del testigo.

De los cultivos de *Phoma* solamente el WN°6 esporuló; éste mostró variaciones apreciables en su esporulación como se puede notar en el cuadro 1.

CUADRO 1

Esporulación de Phoma costarricensis *en diferentes vitaminas*

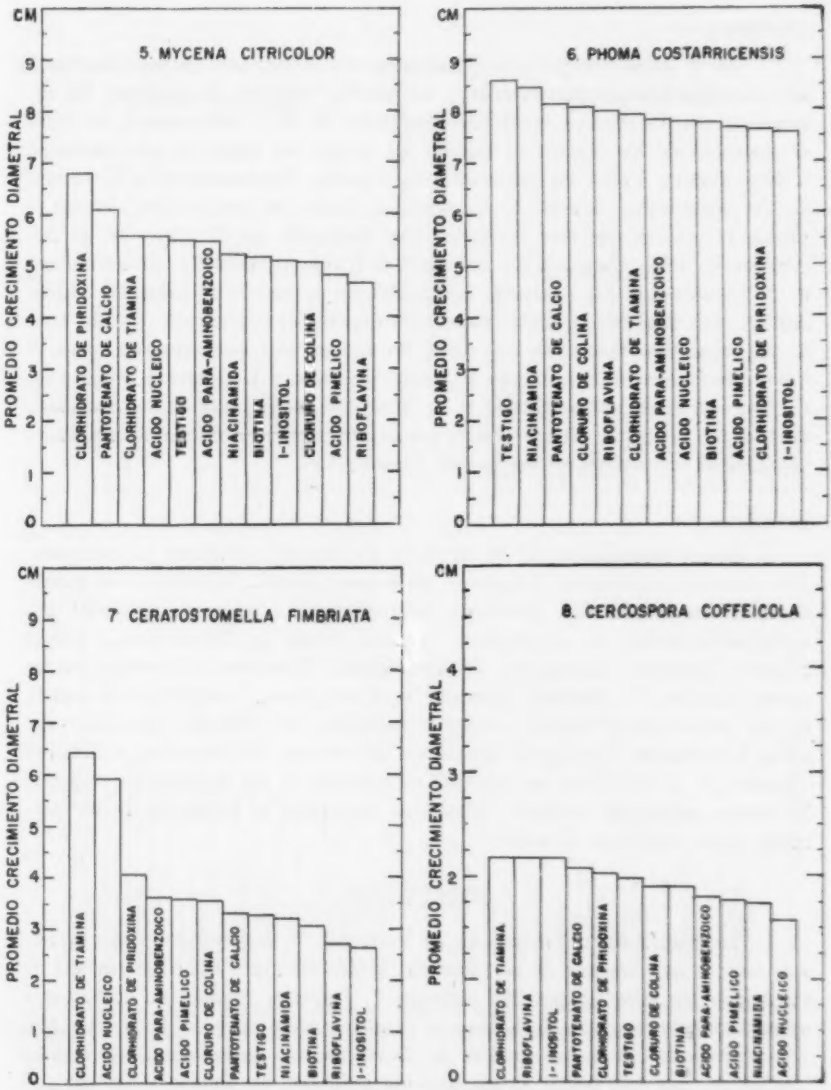
Vitamina	Esporulación
Clorhidrato de tiamina	0
Riboflavina	0
Clorhidrato de piridoxina	0
Pantotenato de calcio	+
Acido para aminobenzoico	+
Niacinamida	++
i-Inocitol	++
Acido pimélico	++
Cloruro de colina	0
Acido nucleico	0
Biotina	0

0 = no hay picnidios; + = muchos picnidios;
++ muchísimos picnidios.

Acido pimélico, i-inositol, niacinamida, ácido para-aminobenzoico y pantotenato de calcio fueron las que favorecieron la formación de picnidios.

M. citricolor y *C. fimbriata* esporularon solamente en clorhidrato de tiamina.

Los cuatro cultivos de *Phoma* mantenidos en cada una de las vitaminas fueron triturados separadamente y asperjados en hojas de café usando el método descrito por ECHANDI (1). Los tratamientos fueron calificados 8 días después y los datos obtenidos se analizaron estadísticamente. No hubo significación para ninguno de los tratamientos.



Gráficos 5-8: Promedio de crecimiento diametral de *Mycena citricolor*, *Phoma costarricensis*, *Ceratostomella fimbriata* y *Cercospora coffeicola* en medio sólido con diferentes vitaminas.

RESPUESTA A LOS DIFERENTES AMINOACIDOS

CRECIMIENTO:

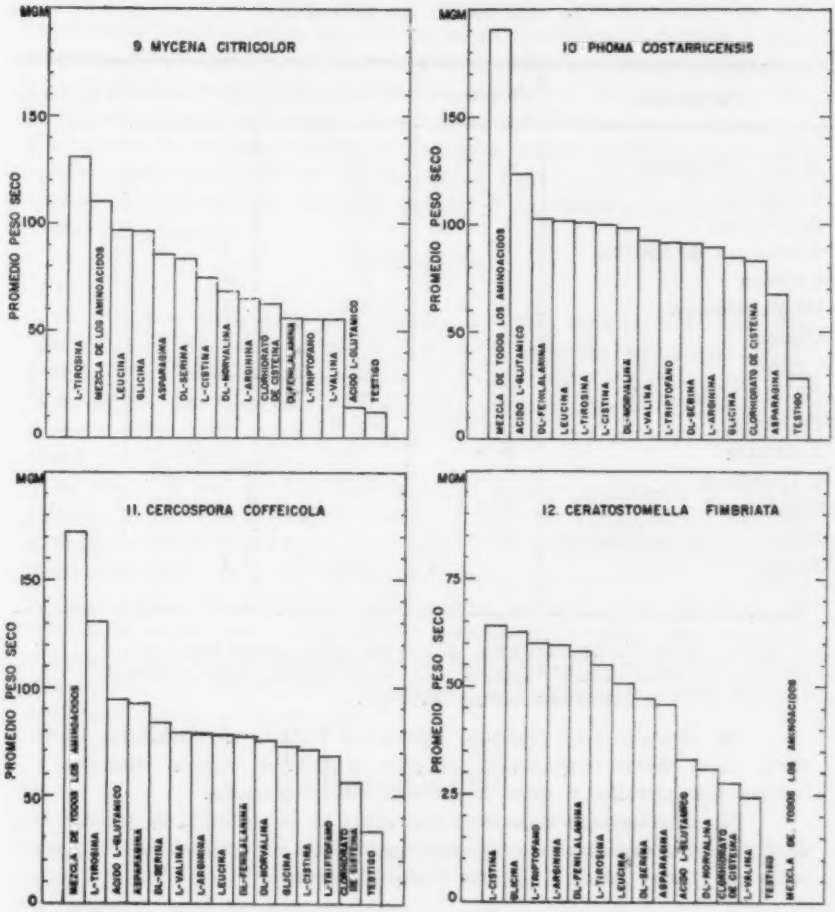
En el primer grupo de experimentos, 13 aminoácidos fueron incorporados al medio básico separadamente y en mezcla. Después de mantener los organismos por 18 días en condiciones similares de luz y temperatura, se filtró el contenido de los frascos. El micelio del hongo fue sacado a peso constante y luego pesado. Todos los organismos reaccionaron favorablemente a la presencia de aminoácidos. L-tirosina, la mezcla de todos los aminoácidos, leucina y glicina fueron los que más favorecieron el desarrollo de *M. citricolor;* el crecimiento en ácido glutámico fue casi igual al testigo (gráfico 9). El crecimiento de *P. costarricensis* fue altamente favorecido por la mezcla de todos los aminoácidos, todos ellos por separado también favorecieron el crecimiento (gráfico 10). *C. coffeicola* fue favorecida por todos los aminoácidos por separado, pero el mayor crecimiento se obtuvo con la mezcla de todos y L-tirosina (gráfico 11). *C. fimbriata* creció mejor cuando se le incorporó cualesquiera de los aminoácidos, ya que no creció del todo en la ausencia de ellos. La mezcla de aminoácidos inhibió el crecimietno del hongo (gráfico 12).

ESPORULACIÓN:

Buena esporulación de *M. citricolor* fue obtenida mediante la incorporación de ácido L-glutámico, L-arginina, asparagina, glicina, DL-serina y la mezcla de todos los aminoácidos; L-tirosina, L-triptófano y L-cistina promovieron una esporulación menor. *P. costarricensis* esporuló mejor en DL-norvalina, L-triptófano y L-valina. Asparagina, DL-fenilalanina, DL-serina y L-cistina fueron menos efectivos. *C. fimbriata* esporuló mejor en glicina, L-triptófano la mezcla de los aminoácidos y leucina; menor esporulación fue obtenida con L-tirosina, ácido L-glutámico, asparagina, clorhidrato de cisteína, DL-norvalina y L-valina (cuadro 2). *C. coffeicola* no esporuló en ninguno de los aminoácidos. Glicina, DL-serina, asparagina y ácido L-glutámico, indujeron la formación de un pigmento color violeta en el medio.

DISCUSION

Los resultados obtenidos con *M. citricolor, P. costarricensis* y *C. coffeicola* indican que ninguna de las vitaminas usadas favoreció significativamente el crecimiento de estos hongos. Sin embargo *C. fimbriata* produjo un crecimiento apreciablemente mayor en clorhidrato de tiamina y ácido nucleico. ROBBINS y MA (5), trabajando con varias especies de *Ceratostomella* incluyendo *C. fimbriata,* concluyeron que este hongo es parcialmente deficiente en tiamina y que un pequeño crecimiento fue obtenido en el medio que contenía solamente minerales. Esto indica que *C. fimbriata* procedente de café reacciona de una manera similar a otras especies por lo menos en lo referente a tiamina. El crecimiento relativamente grande de *C. fimbriata* en el tratamiento testigo en el presente trabajo se debió posiblemente a impurezas en los ingredientes del medio.



Gráficos 9-12: Promedio de peso seco de cuatro cultivos de *Mycena citricolor, Phoma costarricensis, Cercospora coffeicola* y *ceratostomella fimbriata* en medio líquido con diferentes aminoácidos.

CUADRO 2

Esporulación de M. citricolor, P. costarricensis, C. fimbriata *y* C. coffeicola *en cada uno de los aminoácidos*

Aminoácidos	*M. citricolor*	*P. costarricensis*	*C. fimbriata*	*C. coffeicola*
Acido L-Glutámico	++++	0	+	0
L-Arginina	++++	0	0	0
Asparagina	++++	++	+	0
Clorhidrato de Cisteina	0	0	+	0
L-Cistina	+	+	0	0
DL-Fenilalanina	0	++	0	0
Glicina	++++	0	++++	0
Leucina	+++	0	+++	0
DL-Norvalina	0	++++	+	0
DL-Serina	++++	++	0	0
L-Tirosina	++	0	++	0
L-Triptófano	++	++++	++++	0
L-Valina	+++	+++	+	0
Mezcla de los aminoácidos	++++	0	++++	0
Testigo	0	0	0	0

0 = no hay cuerpos fructíferos; + = muy pocos cuerpos fructíferos;
++ = pocos cuerpos fructíferos, +++ = muchos cuerpos fructíferos;
++++ = muchísimos cuerpos fructíferos.

M. citricolor y *C. fimbriata* esporularon bastante en clorhidrato de tiamina, no se observó esporulación de estos organismos en otras vitaminas. *P. costarricensis* esporuló en cinco de las once vitaminas usadas.

No se observaron variaciones apreciables en la virulencia de los cultivos de *P. costarricensis* en diferentes vitaminas. Resultados similares fueron reportados por LEBEN y KEITT (2) con *Venturia inaequalis.*

Los cuatro organismos reaccionaron favorablemente a la presencia de aminoácidos en el medio. *M. citricolor, P. costarricensis* y *C. fimbriata* fueron altamente favorecidos en el crecimiento por la mezcla de aminoácidos; mientras que *C. fimbriata* no creció del todo en este medio. L-tirosina fue el aminoácido que indujo un mayor crecimiento de *M. citricolor* y *C. coffeicola.* L-triptófano, L-valina y asparagina fueron los únicos aminoácidos que indujeron esporulación en los tres hongos, *M. citricolor, P. costarricensis* y *C. fimbriata.*

Los aminoácidos que provocaron mayor crecimiento no fueron los que indujeron mayor esporulación.

SUMARIO

Ninguna de las vitaminas usadas favoreció significativamente el crecimiento de *Mycena citricolor, Phoma costarricensis* y *Cercospora coffeicola. Ceratostomella fimbriata* creció apreciablemente en clorhidrato de tiamina y ácido nucleico. *Mycena citricolor* y *Ceratostomella fimbriata* esporularon solamente en clorhidrato de tiamina. *Phoma costarricensis* esporuló en cinco de las once vitaminas usadas. Los cuatro hongos reaccionaron favorablemente a la presencia de aminoácidos. L-triptófano, L-valina y asparagina, fueron los únicos aminoácidos que indujeron esporulación en los tres hongos, *Mycena citricolor, Phoma costarricensis* y *Ceratostomella fimbriata. Ceratostomella fimbriata* no creció en la mezcla de aminoácidos.

SUMMARY

The four most important pathogens of coffee trees in Costa Rica, *Mycena citricolor, Phoma costarricensis, Cercospora coffeicola,* and *Ceratostomella fimbriata* were grown in liquid cultures and on agar plates to test their responses to eleven different vitamins and to thirteen aminoacids separately and combined, in terms of growth (expressed as oven dry weight and diametral growth on plates) and of sporulation.

None of the vitamins used improved growth significantly of *Mycena citricolor, Phoma costarricensis* or *Cercospora coffeicola. Ceratostomella fimbriata* grew best in thiamine and nucleic acid. *Mycena citricolor* and *Ceratostomella fimbriata* sporulated in thiamine only. *Phoma costarricensis* sporulated in five of the eleven vitamins used. The four organisms were favored in their growth by the presence of amino acids. L-tryptophane, L-valine and asparagin were the only amino acids that induced sporulation on the three fungi, *Mycena citricolor, Phoma costarricensis* and *Ceratostomella fimbriata. Ceratostomella fimbriata* did not grow in a mixture of amino acids.

BIBLIOGRAFIA

1. ECHANDI, E.
   1957. La Quema de los cafetos causada por *Phoma costarricensis* n. sp. *Rev. Biol. Trop.* 5 (1):81-102.

2. LEBEN, C. & G. W. KEITT
   1948. *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. V. The influence of carbon and nitrogen sources and vitamins in vitro. *Amer. Jour. Bot.* 35:337-343.

3. LEWIS, R. W.
   1952. The vitamin nutrition of *Alternaria solani. Phytopath.* 42:657-659.

4. ROBBINS, W. J.
   1939. Growth substances in agar. *Amer. Jour. Bot.* 26:772-778.

5. ROBBINS, W. J. & R. MA
   1942. Vitamin deficiencies of *Ceratostomella* and related fungi. *Amer. Jour. Bot.* 29:835-843.

Rev. Biol. Trop. 6(1):113-122, 1958.

Parasitosis intestinal en el universitario costarricense
I. Helmintiasis

por

Otto Jiménez-Quirós* Rodrigo R. Brenes**

y

Pedro L. Vieto***

(Recibido para su publicación el 10 de julio de 1958)

INTRODUCCION

Si bien los helmintos intestinales son de carácter universal, algunas regiones del globo, condicionadas a factores geográficos y climáticos, ofrecen, más que otras, ambiente propicio al desarrollo y diseminación de algunos de ellos. Los países tropicales y sub-tropicales poseen el optimum ambiental para la perpetuación de las especies y nuestra República, ubicada entre los paralelos 8 y 11 de latitud Norte, de clima lluvioso, ofrece preponderante factor ecológico para una alta morbilidad, tanto más que es puente de unión entre las dos corrientes faunísticas de nuestro continente, como han demostrado CABALLERO & col. (4).

De la literatura revisada de países latinoamericanos, y por tanto de condiciones similares al nuestro, notamos que en su gran mayoría los autores reportan únicamente datos sobre incidencia, sin completarlos con patogenia o nada que se aparte de las clásicas acciones atribuídas universalmente a los helmintos.

---

* Cátedra de Helmintología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Sección Salud del Departamento de Bienestar y Orientación de la Universidad de Costa Rica.

** Laboratorio de Helmintología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

*** Laboratorio Clínico de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Nuestra intención es la de contribuir en algo al esclarecimiento de factores patogenéticos por helmintos, y, reconociendo la inquietud general por un mejor control de estos agentes de enfermedad, no tocaremos en el presente trabajo otros aspectos ya estudiados ampliamente por los diversos autores. Nos interesa, en modo particular, el menoscabo físico y mental que las helmintiasis producen en todas las edades; pero haremos hincapié en algunos aspectos que nos tocan muy de cerca, ya que nuestro material de estudio lo constituye un grupo de individuos entre las 17 y 20 años, edad ésta en que la morbilidad y la mortalidad por helmintos declinan tanto, que frecuentemente se olvida el factor parasitario como el etiológico responsable de disturbios funcionales y orgánicos, y esto es lo que tratamos de revalorizar en el presente trabajo.

MORBILIDAD

De publicaciones recientes de América Latina extractamos: en Cuba, CALVÓ-FONSECA (5) en 1955, observa cómo sobre 52.133 parasitados por helmintos (*Trichuris, Ascaris, Necator*) la morbilidad corresponde al 86,54 por ciento y la mortalidad por helmintiasis al 8,58 por ciento, habiendo ocurrido dichas muertes en el 74,6 por ciento de las veces en niños menores de 9 años.

En México, BUSTOS (3) en 1938, reporta sobre 1000 niños el 31,44 por ciento de positivos (*Trichuris, Ascaris, Ancylostoma*) siendo el porcentaje de *Ancylostoma* el más bajo (0,25%). En un estudio de 1948, RUIZ-REYES (12) encuentra el 90 por ciento de parasitismo intestinal en varias combinaciones, con prevalencia de infección por uncinarias, concordando así con BIAGI (2) que en 1953 encontró hasta un 75 por ciento de *Ancylostoma* en escolares.

En Brasil, DE SOUZA-ARAUJO (6) en 1925, pone en evidencia la enorme morbilidad por helmintos intestinales en el Estado de Paraná, en donde la frecuencia en niños hasta los 10 años fue del 91,5 por ciento para *Ascaris*, del 83,4 por ciento para *Ancylostoma* y del 80,9 por ciento para *Trichuris*.

En Chile, NEGHME (10) en 1954, encuentra sobre 3.902 escolares de los alrededores de Santiago el 40,15 por ciento de *Trichuris*, el 36,48 por ciento de *Enterobius*, el 27,37 por ciento de *Ascaris* y el 15,76 por ciento de *Hymenolepis nana*. El mismo autor (9) en un trabajo anterior sobre epidemiología, hace notar que la incidencia varía notablemente si se trata de la zona norte, central o sur del país y sobre un total de 8390 casos, tan sólo 4 mineros resultaron parasitados por *Ancylostoma*.

En Costa Rica, la primera publicación sobre este tema corresponde a un trabajo de VÍQUEZ (14) del año 1915; sobre un total de 33.500 exámenes de heces de individuos provenientes de varias localidades del país y sobre 25.600 positivos reporta: *Ancylostoma* (50%), *Trichuris* (43%), *Ascaris* (33%), *Strongyloides* (1%). Según el autor, la principal causa de morbilidad nacional la constituye la infección por nemátodos, la segunda y tercera, respectivamente, tuberculosis y sífilis.

En 1937, FERMOSELLE-BACARDÍ & BRENES (7) encuentran en escolares de Nicoya, Guanacaste, un parasitismo intestinal del 97,3 por ciento con

una frecuencia del 76,3 por ciento de *Ascaris,* 68,9 por ciento de *Ancylostoma,* 52 por ciento de *Trichuris,* 4 por ciento de *Strongyloides* y 1,3 por ciento de *Hymenolepis nana.*

Un año después, AMADOR-GUEVARA (1) realiza un estudio sobre la población escolar de Turrialba y reporta el 99,8 por ciento de parasitismo por *Trichuris,* el 71 por ciento por *Ascaris,* el 65 por ciento por *Ancylostoma,* el 7,6 por ciento por *Strongyloides,* el 3 por ciento por *Hymenolepis nana* y el 0,2 por ciento por *Taenia* sp., con un total del 99.8 por ciento de parasitismo por helmintos.

LIZANO & DE ABATE (8) en 1953, en 11.073 casos de niños menores de 13 años provenientes de todas las localidades del país, encuentran helmintos intestinales en las siguiente proporción: *Trichuris* (62,01%) *Ascaris* (38,74%), *Ancylostoma-Necator* (27,28%), *Strongyloides* (7,42%), *Hymenolepis nana* (3,02%), *Enterobius* (0,16%), *Taenia* sp. (0,12%) e *Hymenolepis diminuta* (0,01%). Los autores practicaron dichos exámenes con dos preparaciones a fresco, sin seguir ninguna técnica de coloración ni de concentración.

Porcentajes más altos de positividad obtuvieron RUIZ & LIZANO (13) en 1954, empleando, en un grupo de 200 niños, la técnica de Faust. Los resultados fueron: *Trichuris* 90 por ciento, *Ascaris* 65,5 por ciento, *Ancylostoma-Necator* 51,5 por ciento, e *Hymenolepis nana* 7 por ciento.

Con datos estadísticos del Ministerio de Salubridad Pública y Protección Social, sobre 119.443 exámenes practicados en habitantes de toda la República durante el año 1957 y correspondientes a 61.046 en zonas rurales y a 58.397 en el Laboratorio Central (practicados estos últimos con la técnica de Ritchie) confeccionamos el siguiente cuadro:

CUADRO 1

Frecuencia de helmintos en la República de Costa Rica durante el año 1957

Helmintos diagnosticados	Laboratorios Rurales		Laboratorio Central	
	No.	%	No.	%
TOTAL EXÁMENES PRACTICADOS	61.046		58.397	
TOTAL POSITIVOS	54.487	89,25	56.200	96,23
Trichuris trichiura	36.685	60,09	36.421	62,36
Ascaris lumbricoides	25.439	41,67	28.358	48,21
Ancylostoma-Necator	18.861	30,89	6.704	11,47
Strongyloides stercoralis	2.041	3,34	1.103	1,88
Enterobius vermicularis	441	0,72	71	0,12
Hymenolepis nana	988	1,61	2.984	5,10
Hymenolepis diminuta	44	0,07	273	0,46
Tænia sp.	295	0,48	280	0,48

Finalmente de una encuesta practicada en la región de Guápiles en el mes de abril del presente año en escolares de 7 a 13 años[1], encontramos un total de parasitados por helmintos del 94 por ciento con 82,7 por ciento de *Trichuris*, 62,2 por ciento de *Ascaris*, 26 por ciento de *Ancylostoma-Necator* y de 4,9 por ciento de *Strongyloides* sobre un total de 302 exámenes y con un parasitismo general del 96,5 por ciento.

MATERIAL Y METODO

Hemos tomado para el presente estudio 2000 casos correspondientes a estudiantes pre-universitarios, 1000 varones y 1000 mujeres.

Provienen de todos los Liceos de la República, aunque su gran mayoría (70%) pertenece a colegios de la Capital, otros (22%) a colegios ubicados en la Meseta Central y tan sólo los menos (8%) a colegios de Provincias alejadas de la Meseta, como serían Puntarenas, Limón y Guanacaste. Su edad fluctúa entre los 17 y los 20 años, siendo el grupo de 18 el mayor en mujeres y varones.

De este modo la población en estudio la constituye un grupo de bachilleres con aparente buen estado de salud, habiendo contribuido para ello los exámenes médicos previos, de parte de médicos oficiales o de familia, los tratamientos antiparasitarios recibidos y un standard económico tal, que permitió la finalización de la Escuela Media.

Cuando se realiza el examen físico de los estudiantes, los médicos de la Sección han analizado ya la "Historia" de antecedentes familiares y personales, los síntomas presentes y los resultados de los exámenes de laboratorio. Una vez finalizado el reconocimiento, se completa el interrogatorio para que conste, entre los diagnósticos de admisión, la parasitosis intestinal como sintomática objetiva, subjetiva o asintomática. Esto explica el por qué a ciertas manifestaciones clínicas y subclínicas, de determinadas helmintiasis, se les diera particular relieve.

En el presente estudio los exámenes de heces se practicaron siguiendo la técnica propuesta por RITCHIE (11), habiéndose demostrado bastante satisfactoria y elevando las posibilidades coproparasitodiagnósticas.

RESULTADOS

De los dos mil pacientes examinados 820 (41%) presentaron parasitismos intestinal por helmintos y de éstos 420 eran hombres y 400 mujeres.

El número total de helmintos encontrados en esa población estudiantil fue de 912, correspondiéndole a los hombres una frecuencia de 484 y a las mujeres de 428, como se puede observar en el cuadro 2.

---

[1] Trabajo en preparación.

CUADRO 2

Frecuencia de helmintos intestinales en universitarios (dos mil casos: mil hombres y mil mujeres)[2]

Helmintos encontrados	Número de casos		
	Ambos	Hombres	Mujeres
TOTALES	912	484	428
NEMÁTODOS			
Trichuris trichiura	644	330	314
Ascaris lumbricoides	128	58	70
Ancylostoma d. o *Necator a.*	70	58	12
Strongyloides stercoralis	22	16	6
Enterobius vermicularis	2	—	2
CÉSTODOS			
Hymenolepis nana	30	16	14
Taenia (*saginata* o *solium*)	16	6	10

[2] Los porcentajes no se especifican en el presente cuadro por tratarse de 1000 casos de hombres y 1000 de mujeres que permiten una rápida evaluación.

Las principales diferencias las notamos en relación a uncinarias, encontrando el 5,8 por ciento de positivos en los varones y el 1,2 por ciento en las mujeres. En relación a *Strongyloides stercoralis* también el porcentaje en los hombres (1,6%) sobrepasó el de las mujeres (0,6%). Llamó también la atención la casi ausencia de *Enterobius vermicularis,* pues sólo obtuvimos dos casos en mujeres.

De las combinaciones de helmintos, las más frecuentes resultaron ser en la totalidad de los casos: *Trichuris - Ascaris* 61 casos (3,05%); *Trichuris - Ancylostoma* 47 casos (2,1%) y *Trichuris - Ascaris - Ancylostoma* 6 casos (0,3%).

Cada helminto por aparte, nos ofreció la siguiente frecuencia: *Trichuris trichiura,* el más frecuente, con 644 casos en que estuvo presente (32,2%) y con el 33 por ciento en los varones y el 31,4 por ciento en las mujeres. Le si-

guió *Ascaris lumbricoides* con 128 casos (6,40%) en un 5,8 por ciento en los varones y el 7 por ciento en las mujeres. Finalmente *Ancylostoma* con 70 casos (3,5%) de los cuales el 5,8 por ciento correspondió a los varones y tan sólo el 1,2 por ciento a las mujeres.

Nuestros datos, en relación a la secuencia encontrada, concuerdan entre nosotros con los de AMADOR-GUEVARA (1), LIZANO & DE ABATE (8), RUIZ & LIZANO (13), y Ministerio de Salubridad Pública y Protección Social.

De los trabajos de América Latina, la secuencia *Trichuris, Ascaris, Ancylostoma,* fue ya también reportada por CALVÓ-FONSECA (5) en Cuba y por BUSTOS (3) en México.

OBSERVACION SINTOMATOLOGICA

Analizando los síntomas genéricos estudiados entre los 820 pacientes positivos por helmintos y los 1180 negativos, encontramos que de los casos positivos éstos estuvieron presentes 578 veces, así divididos: en 420 hombres parasitados, 221 presentaron síntomas (52%) y 119 fueron asintomáticos (48%). De las mujeres parasitadas (400) 357 presentaron síntomas (89%) y tan sólo 43 fueron asintomáticas (11%).

De los hombres no parasitados (580) 137 presentaron síntomas (23%) y 443 fueron asintomáticos (77%). De las mujeres no parasitadas (600) 253 presentaron síntomas (42%) y 347 fueron asintomáticas (58%).

A primera vista resalta el hecho de que en ambos sexos el porcentaje de síntomas fue mayor en los parasitados que en los no parasitados. En los hombres el 52 por ciento contra el 23 por ciento, y en las mujeres la desigualdad es digna de nota: el 89 por ciento contra el 42 por ciento.

Analizando los síntomas, motivo de nuestro estudio, en cada uno de los helmintos, encontramos:

NEMÁTODOS

Trichuris trichiura

En hombres: de 330 casos positivos 113 presentaron síntomas (34%) y fueron, en orden de frecuencia: escozor conjuntival 41 (12%); cefalea 39 (11%); gastrointestinales 23 (7%); hepáticos 22 (7%); nerviosos 16 (5%); alérgicos 15 (5%). La combinación sintomatológica más frecuente resultó ser la de escozor conjuntival con cefalea y trastornos gastrointestinales.

En mujeres: sobre 314 positivos 273 presentaron síntomas (87%) y éstos fueron, en orden de frecuencia: cefalea 161 (51%); trastornos gastrointestinales 139 (44%); hepáticos 117 (37%); nerviosos 101 (32%); escozor conjuntival 98 (31%); dismenorrea 82 (26%) y alérgicos 35 (11%). Las combinaciones más frecuentes fueron: cefalea con escozor conjuntival, trastornos gastrointestinales y dismenorrea, siguiéndole cefalea con escozor conjuntival, trastornos nerviosos y dismenorrea.

Ascaris lumbricoides

En hombres: sobre un total de 58 casos, 42 presentaron síntomas (72%) y 16 no (28%). Estos fueron en orden de frecuencia: cefaleas 18 (31%); escozor conjuntival 17 (29%); estomacales 13 (22%); intestinales 11 (19%); hepáticos 7 (12%); nerviosos 5 (9%) y alérgicos 4 (7%).

Las combinaciones más frecuentes fueron las siguientes: Cefaleas, escozor conjuntival y hepáticos; cefaleas, escozor conjuntival y estomacales.

En mujeres: de un total de 70 casos 51 presentaron síntomas (73%) y 19 no (27%). En orden de frecuencia, estos fueron: Escozor conjuntival 23 (33%): cefalea 20 (28%); dismenorrea 20 (28%); hepáticos 10 (14%); intestinales 8 (11%); estomacales 7 (10%); nerviosos 5 (7%) y alérgicos 5 (7%).

Las combinaciones más frecuentes fueron: escozor conjuntival, cefalea y dismenorrea; escozor conjuntival, hepáticos y cefalea.

Ancylostoma duodenale o *Necator americanus*

En hombres: de los 58 casos positivos 45 presentaron síntomas (77%) y 13 no (23%). Estos fueron en orden de frecuencia: gastroduodenales 23 (40%); cefalea 14 (24%); escozor conjuntival 13 (22%); hepáticos 6 (10%); nerviosos 3 (5%); alérgicos 2 (4%) y respiratorios 1 (2%).

De las combinaciones sintomatológicas, prevaleció la tríade: gastroduodenal, cefalea y escozor conjuntival.

En las mujeres: de los 12 casos positivos 8 presentaron síntomans (67%) y 4 no (33%). Estos fueron en orden de frecuencia: gastroduodenales 5 (41%); cefalea 4 (33%); dismenorrea 4 (33%); hepáticos 3 (25%) y escozor conjuntival 1 (8%).

De las combinaciones sintomatológicas prevaleció la tríade: gastroduodenal, cefalea, dismenorrea.

Strongyloides stercoralis

En los hombres: de 16 casos positivos 8 presentaron síntomas (50%) y estos fueron en orden de frecuencia: hepáticos 4 (25%); intestinales 3 (18%); cefalea 3 (18%); nerviosos 2 (12%) y escozor conjuntival 2 (12%). La combinación sintomatológica más frecuente resultó ser la tríade: cefalea con trastornos hepáticos e intestinales.

En las mujeres: de los 6 casos positivos 5 presentaron síntomas (83%) y estos fueron en orden de frecuencia: escozor conjuntival 4 (66%); dismenorrea 3 (50%); cefalea 3 (50%); hepáticos 2 (33%) y nerviosos 1 (16%). La combinación más frecuente la tríade: cefalea, escozor conjuntival y dismenorrea.

Enterobius vermicularis

En las mujeres: los únicos dos casos dieron sintomatología: prurito anal 2 (100%); escozor conjuntival 1 (50%); dismenorrea 2 (100%); alérgicos 1 (50%). Prevaleció el conjunto prurito anal, dismenorrea.

CÉSTODOS

Hymenolepis nana

En los hombres, de los 16 casos positivos 10 presentaron sintomatología (62%). Los síntomas observados fueron: cefalea 5 (21%); escozor conjuntival 4 (25%); estomacales 3 (18%); intestinales 2 (12%) y nerviosos 2 (12%). La tríade sintomatológica más frecuente resultó ser: cefalea, escozor conjuntival y estomacales.

En las mujeres: de los 14 casos positivos 11 presentaron síntomas (78%). En orden de frecuencia estos fueron: cefalea 6 (43%); dismenorrea 5 (35%); alérgicos 4 (28%); escozor conjuntival 3 (21%); nerviosos 3 (21%); intestinales 2 (14%) y hepáticos 1 (7%). La tríade más frecuente estuvo compuesta por cefalea, dismenorrea y trastornos alérgicos.

Taenia (solium o *saginata)*

En los hombres, de los 6 casos positivos 3 presentaron síntomas (50%), prevaleciendo entre estos: cefalea 3 (50%); estomacalas 2 (33%); el dualismo sintomatológico cefalea, trastornos estomacales fue el más frecuente.

En las mujeres, de los 10 casos positivos 7 presentaron síntomas (70%). Los más frecuentes resultaron ser: estomacalas 6 (60%); dismenorrea 4 (40%); cefalea 3 (30%); alérgicos 3 (30%); escozor conjuntival 2 (20%), y la combinación estomacales, dismenorrea y alérgicos, la más frecuente.

CONCLUSIONES

El análisis de los 2000 casos estudiados, nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

1) La frecuencia de helmintos intestinales en el universitario costarricense es alta y corresponde al 41 por ciento de la totalidad de los casos.

2) La secuencia *Trichuris, Ascaris, Ancylostoma-Necator,* por nosotros encontrada, concuerda con otros estudios realizados en Costa Rica, aunque el *Trichuris trichiura,* por su alta incidencia relativa, sea el nemátodo de tomar principalmente en cuenta.

3) El uso de la técnica de Ritchie entre las coproparasitodiagnósticas de rutina, en el Laboratorio Clínico de la Universidad de Costa Rica, elevó el porcentaje de positivos y con ese material realizamos el presente estudio.

4) De la evaluación, en ambos sexos, de los síntomas encontrados, por la mayor frecuencia de éstos en las mujeres, deducimos que algunos parásitos cuya localización intestinal guarda relación de contigüidad con los genitales internos, favorecen notablemente el manifestarse de síntomas dismenorreicos y que de otra parte, las mujeres demuestran una mayor sensibilidad reactiva delante a los mismos agentes etiológicos.

5) La cefalea se presentó como el síntoma más frecuente en hombres y mujeres, y al igual que el escozor conjuntival creemos deba interpretrásele como de origen tóxico-alérgico.

6) El parasitismo por *Trichuris trichiura* en la mujer debe ser tomado muy en cuenta pues arrojó un 87 por ciento de síntomas.

7) Ya que el principal objetivo del presente trabajo es contribuir al esclarecimiento de síntomas clínicos y subclínicos que inciden en la salud física y mental del universitario parasitado por helmintos, queremos dejar sentada la inquietud para que estudios sucesivos pongan en luz si algunos disturbios frecuentes (cefalea, trastornos conjuntivales, dismenorrea, etc.) deben ser investigados también bajo esta sospecha etiológica y en modo particular la trichiurasis.

RESUMEN

Mejorando las posibilidades coproparasitodiagnósticas con la técnica de Ritchie, se estudian la incidencia de helmintos intestinales en el universitario costarricense y los síntomas más frecuentes, en ambos sexos, sobre un total de 2000 casos.

Cefalea, escozor conjuntival y dismenorrea resultaron ser los síntomas mayormente encontrados y de los cuales casi no se hace mención en la literatura.

Trichuris trichiura, el nemátodo más frecuentemente encontrado, resultó también ser el que mayormente incide sobre el organismo femenino.

Se deja sentada la inquietud para que nuevos estudios pongan en luz, si ciertos trastornos frecuentes como cefalea, escozor conjuntival y dismenorrea, deban ser investigados, primordialmente, como de origen helmíntico y en especial por *Trichuris trichiura.*

SUMMARY

The incidence and symptomatology of intestinal helminth parasites were investigated in 1000 male and 1000 female entering students of the University of Costa Rica aged 17 to 20 years. The over-all incidence of helminths was of 41 per cent. The most frequent parasite was *Trichuris trichiura* (33% in men, 31.4% in women), followed by *Ascaris lumbricoides* (5.8% in men, 7% in women) *Ancylostoma-Necator* (5.8% in men, 1.2% in women). There were also found *Strongyloides stercoralis* (1.6% in men, 0.6% in women), *Enterobius vermicularis* (2 cases, in females), *Hymenolepis nana* (1.6% in men, 1.4% in women) and *Taenia* spp. (0.6% in men, 1.0% in women).

Helminthiasis symptoms in young adults have been little investigated. It is therefore interesting to note the occurence among these students of headaches, smarting of the conjunctive, and dysmenorrhea as the most frequent manifestations. Gastro-intestinal, hepatic, nervous, and allergic symptoms were also observed.

Trichuris trichiura the most frequent nematode, causes also the highest incidence of symptoms, specially in females.

Further studies are desirable to determine whether certain frequent desorders, such as headaches, conjunctival smarting, and dysmenorrhea should be investigated primarily as of helminthic origin, and especially as probable symptoms of *Trichuris trichiura*.

BIBLIOGRAFIA

1. AMADOR-GUEVARA, J.
   1938. Parasitismo intestinal escolar *Rev. Méd. C. R.* 3(46):113-117.

2. BIAGI, F.
   1953. Indices coproparasitoscópicos humanos en Escárcega, Camp. *Medicina (Méx.)* 33(676):217-220.

3. BUSTOS, A.
   1938. Resumen en *Bol. Ofic. Sanit. Panamer.* 18(8):760.1939.

4. CABALLERO Y C., E. R. BRENES & O. JIMÉNEZ-QUIRÓS
   1957. Helmintos de la República de C .R. IV. Algunos Tremátodos de animales domésticos y silvestres. *Rev. Biol. Trop.* 5(2):135-155.

5. CALVÓ FONSECA, R., P. KOURÍ & J. G. BASNUEVO
   1938. Resumen en *Bol. Ofic. Sanit. Panamer.* 18(8):759. 1939.

6. DE SOUZA ARAUJO, H. C.
   1925. As verminoses nas creanças do Paraná. *Mem. Inst. Osw. Cruz.* 12(2):389-399.

7. FERMOSELLE BACARDÍ, J. & R. BRENES
   1937. El parasitismo intestinal en la Escuela Leonidas Briceño y su relación con el uso del calzado. *Rev. Méd. C. R.* 2(35):515-519.

8. LIZANO CECILIA & J. DE ABATE
   1953. Incidencia de parasitismo intestinal en los niños de la Sección de Pediatría del Hospital San Juan de Dios. *Rev. Biol. Trop.* 1(2):223-233.

9. NEGHME, A. & R. SILVA
   1951. Nueva contribución al estudio epidemiológico de la amibiasis y otras enteroparasitosis en Chile. *Bol. Inform. Parasit. Chile.* 6(2):21-23.

10. NEGHME, A., R. SILVA & R. SOTOMAYOR
    1954. Enteroparasitosis en escolares de la Prov. de Santiago. *Bol. Chil. Parasit.* 9 (3):70-73.

11. RITCHIE, L. S.
    1948. *Bull. U. S. Army Med. Department.* 8(4):326.

12. RUIZ REYES, F.
    1948. Parasitosis intestinales. *Medicina (Méx.)* 28(553):137-141.

13. RUIZ, A. & CECILIA LIZANO
    1954. Parásitos intestinales en niños; estudio comparativo de los métodos diagnósticos usados. *Rev. Biol. Trop.* 2(1):29-36.

14. VÍQUEZ, C.
    1915. Documentos sobre la distribución geográfica de las enfermedades parasitarias. *Anales Hospital San Juan de Dios.* 1(2):85-108.

INFORMACION PARA LOS COLABORADORES

Esta REVISTA publica sólo trabajos originales e inéditos.

El COMITE DE REDACCION se reserva el derecho de aceptar o rechazar los trabajos recibidos. Los originales en ningún caso serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados en papel blanco de carta, escritos a máquina, a doble espacio, con tinta azul o negra y en páginas numeradas, indicándose la institución donde fueron realizados. Se aceptan trabajos que tengan como máximo 20 páginas; sólo excepcionalmente y a juicio del COMITE DE REDACCION, se publicarán trabajos mayores.

Se aceptan artículos en los siguientes idiomas: castellano, inglés, francés, portugués, italiano y alemán. Es obligatorio por lo menos un resumen en castellano.

La corrección de las pruebas de imprenta estará a cargo de los autores, pero se advierte que los trabajos enviados deben tener carácter definitivo.

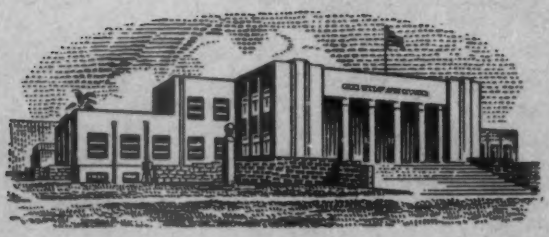
Se aceptan fotos, cuadros y diseños, gráficos, etc. en tinta china y en número prudente, tomándose en cuenta las dimensiones de la REVISTA.

Las ilustraciones serán enviadas en hojas aparte con el nombre del autor y el número de la figura. Las leyendas correspondientes serán agrupadas por separado. En caso de microfotografías es necesario especificar el aumento.

Las citas bibliográficas, escritas en hoja aparte, seguirán el siguiente orden: apellido e inicial del nombre del autor, año, título del artículo por extenso, nombre de la revista (abreviación reconocida), volumen, número, primera y última página del artículo. En caso de libros, debe especificarse además la casa editora, lugar y número de edición.

Serán entregadas gratuitamente 100 copias de sus trabajos a los autores que están suscritos a la revista. Los no suscritos recibirán únicamente 10 copias.

Suscripción anual: Costa Rica ₡ 10.00. Otros países $2.00
Número suelto : Costa Rica ₡ 6.00. Otros países $1,25



IMPRESA EN LOS TALLERES TIPOGRAFICOS FALCO LTDA.